

In-vivo–Untersuchung der plaque- und gingivitishemmenden Wirkung
einer Kombination aus Chlorhexidindiglukonat und Natriumfluorid in
Gelform

Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med. dent.

an der Medizinischen Fakultät

der Universität Leipzig

eingereicht von: Peter Weise

geboren am 07. Februar 1989 in der Hansestadt Rostock

angefertigt in: Funktionsbereich Parodontologie

der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie

Universität Leipzig

Betreuer: Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. H. Jentsch

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 18.12.2018

Inhaltsverzeichnis

1	Einführung.....	10
2	Hintergrund	12
2.1	Epidemiologie der Gingivitis	12
2.2	Ätiologie und Pathogenese der Gingivitis	13
2.3	Mikrobiologie der experimentellen Gingivitis.....	15
2.4	Entstehung, Aufbau und Organisation von Plaque	16
2.5	Gingivitis als Pathogenesefaktor der Parodontitis.....	17
2.6	Wirtsabwehr	18
2.6.1	Sulkusflüssigkeit.....	18
2.6.2	Matrixmetalloproteinase-8	19
2.6.3	Interleukin-1 β	22
2.7	Parodontopathogene Keime.....	24
2.7.1	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	24
2.7.2	<i>Prevotella intermedia</i>	26
2.7.3	<i>Treponema denticola</i>	27
2.8	Therapie der plaqueinduzierten Gingivitis.....	29
2.9	Fluoridierung	30
2.10	Chlorhexidindiglukonat	31
3	Ziel der Untersuchung	33
4	Material und Methoden.....	34
4.1	Probandenakquise und Stichprobengröße	34
4.2	Untersuchungsaufbau und –ablauf.....	35
4.3	Klinische Befunderhebung.....	38
4.3.1	Erhebung des Plaqueindex	38
4.3.2	Erhebung des Gingivalindex nach Lobene	38
4.3.3	Bestimmung der Sulkusflüssigkeitsfließrate	39
4.3.4	Quantitative biochemische Untersuchungen	40
4.3.5	Mikrobiologische Untersuchungen.....	40

4.4	Statistische Datenanalyse	42
5	Ergebnisse	43
5.1	Probandencharakterisierung	43
5.2	Poweranalyse.....	43
5.3	Klinische Variablen.....	45
5.3.1	Plaqueindex (Quigley-Hein-Index).....	45
5.3.2	Gingivalindex nach Lobene	51
5.3.3	Sulkusflüssigkeitsfließrate	56
5.4	Biochemische Untersuchungen.....	68
5.4.1	Matrixmetalloproteinase-8	68
5.4.2	Interleukin 1- β	71
5.5	Mikrobiologische Ergebnisse.....	74
5.5.1	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	74
5.5.2	<i>Treponema denticola</i>	76
5.5.3	<i>Prevotella intermedia</i>	79
6	Diskussion.....	82
6.1	Diskussion der Methode.....	82
6.2	Diskussion der Ergebnisse	84
6.2.1	Änderung des Plaqueindex	84
6.2.2	Änderung des Gingivalindex nach Lobene	84
6.2.3	Änderung der Sulkusflüssigkeitsfließrate.....	85
6.2.4	Änderung von Matrixmetalloproteinase-8	86
6.2.5	Änderung von Interleukin 1- β	86
6.2.6	Änderung von <i>Fusobacterium nucleatum</i>	87
6.2.7	Änderung von <i>Treponema denticola</i>	87
6.2.8	Änderung von <i>Prevotella intermedia</i>	88
6.3	Schlussfolgerung.....	88
7	Zusammenfassung.....	90
8	Literaturverzeichnis	93
9	Anlagen.....	121

9.1	Anamnesebogen	121
9.2	Befundblatt	122

Abkürzungsverzeichnis

<i>A. oris</i>	<i>Actinomyces oris</i>
ATPase	Adenosintriphosphatase
CFU	Colony Forming Unit
CHX	Chlorhexidindiglukonat
COX-2	Cyclooxygenase-2
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DGZMK	Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
<i>F. nucleatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
FadA	Flavin-Adenin-Dinucleotid
GI	Gingivalindex nach Lobene
Gr.	Gruppe
IL-1 β	Interleukin-1 β
LDD	Low Dose Doxycyclin
MMP-8	Matrixmetalloproteinase-8
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
<i>P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. intermedia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>P. nigriscens</i>	<i>Prevotella nigriscens</i>
<i>P. pallens</i>	<i>Prevotella pallens</i>
PAF	Plättchen aktivierender Faktor
PCR	Polymerase Chain Reaction
PGE ₂	Prostaglandin-E2

PMN	Polymorphkernige neutrophile Granulozyten
ppm	parts per million
PSI	Periodontal Screening Index
QHI	Quigley-Hein-Index
qPCR	Echtzeit (Real Time) PCR
<i>S. mitis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>S. oralis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>S. sanguinis</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
SFFR	Sulkusflüssigkeitsfließrate
ssp.	Subspezies
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
<i>T. denticola</i>	<i>Treponema denticola</i>
TIMP	Tissue Inhibitors of Matrixmetalloproteinase
WHO	World Health Organisation
\bar{x}	Mittelwert
s	Standardabweichung
x	Median

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Untersuchungsaufbau.....	35
Tabelle 2: Turesky-Modifikation des Quigley-Hein-Index.....	38
Tabelle 3: Modifizierter Gingivalindex nach Lobene.....	39
Tabelle 4: Sulkusflüssigkeitsfließrate.....	40
Tabelle 5: Primer zur Amplifizierung des 16 S RNA Genbereiches für die Erreger <i>F. nucleatum</i> , <i>T. denticola</i> und <i>P. intermedia</i>	41
Tabelle 6: Demographische Probandendaten.....	43
Tabelle 7: Poweranalyse im Gruppenvergleich.....	44
Tabelle 8: Poweranalyse unter Berücksichtigung von Wechselwirkungen (Beeinflussung durch Zeit und Gruppen)	44
Tabelle 9: Quigley-Hein-Index zu den Zeitpunkten T-1 bis T3	46
Tabelle 10: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test Quigley-Hein-Index.....	47
Tabelle 11: T-Test der Messwertdifferenzen Quigley-Hein-Index	47
Tabelle 12: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Quigley-Hein-Index	48
Tabelle 13: Gingivalindex nach Lobene zu den Zeitpunkten T-1 bis T3.....	52
Tabelle 14: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test Gingivalindex nach Lobene	52
Tabelle 15: T-Test der der Messwertdifferenzen Gingivalindex nach Lobene	53
Tabelle 16: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Gingivalindex nach Lobene.....	53
Tabelle 17: Sulkusflüssigkeitsfließrate am Zahn 15	56
Tabelle 18: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test Sulkusflüssigkeitsfließrate 15	56
Tabelle 19: T-Test der Messwertdifferenzen Sulkusflüssigkeitsfließrate 15	57
Tabelle 20: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Sulkusflüssigkeitsfließrate.....	57
Tabelle 21: Sulkusflüssigkeitsfließrate an Zahn 25	59
Tabelle 22: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test Sulkusflüssigkeitsfließrate 25	59
Tabelle 23: T-Test der Messwertdifferenzen Sulkusflüssigkeitsfließrate 25	60
Tabelle 24: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Sulkusflüssigkeitsfließrate 25.....	60
Tabelle 25: Sulkusflüssigkeitsfließrate 35.....	62
Tabelle 26: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test Sulkusflüssigkeitsfließrate 35	62
Tabelle 27: T-Test der Messwertdifferenzen Sulkusflüssigkeitsfließrate 35	63
Tabelle 28: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Sulkusflüssigkeitsfließrate 35.....	63
Tabelle 29: Sulkusflüssigkeitsfließrate an 45	65

Tabelle 30: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test	
Sulkusflüssigkeitsfließrate 45	65
Tabelle 31: T-Test der Messwertdifferenzen Sulkusflüssigkeitsfließrate 45	66
Tabelle 32: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Sulkusflüssigkeitsfließrate 45	66
Tabelle 33: Matrixmetalloproteinase-8 in ng/ml	68
Tabelle 34: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test	
Matrixmetalloproteinase-8	68
Tabelle 35: T-Test der Messwertdifferenzen MMP-8	69
Tabelle 36: Friedman-Test und Wilcoxon-Test MMP-8	69
Tabelle 37: Interleukin 1- β in ng/ml.....	71
Tabelle 38: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test Interleukin-1 β	71
Tabelle 39: T-Test der Messwertdifferenzen IL-1 β	72
Tabelle 40: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Interleukin-1 β	72
Tabelle 41: Keimzahlen von <i>Fusobacterium nucleatum</i> (CFU \cdot 10 ⁶)	74
Tabelle 42: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test <i>Fusobacterium nucleatum</i>	75
Tabelle 43: T-Test der Messwertdifferenzen <i>F. nucleatum</i>	75
Tabelle 44: Friedman-Test und Wilcoxon-Test <i>F. nucleatum</i>	75
Tabelle 45: Keimzahlen von <i>Treponema denticola</i> (CFU \cdot 10 ³)	77
Tabelle 46: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test <i>Treponema denticola</i>	77
Tabelle 47: T-Test der Messwertdifferenzen <i>T. denticola</i>	78
Tabelle 48: Friedman-Test und Wilcoxon-Test <i>T. denticola</i>	78
Tabelle 49: Keimzahlen von <i>Prevotella intermedia</i> (CFU \cdot 10 ³)	80
Tabelle 50: Kruskal-Wallis, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test <i>P. intermedia</i>	80
Tabelle 51: T-Test der Messwertdifferenzen <i>P. intermedia</i>	80
Tabelle 52: Friedman-Test und Wilcoxon-Test <i>P. intermedia</i>	81

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Studienverlauf.....	36
Abbildung 2: Ergebnisse Quigley-Hein-Index gesamte Mundhöhle	49
Abbildung 3: Ergebnisse Quigley-Hein-Index gesamte Mundhöhle (Balkendiagramm).....	49
Abbildung 4: Ergebnisse Quigley-Hein-Index an Entnahmestellen gepoolt.....	50
Abbildung 5: Ergebnisse Quigley-Hein-Index an Entnahmestellen gepoolt (Balkendiagramm)	50
Abbildung 6: Ergebnisse Gingivalindex nach Lobene gesamte Mundhöhle	54

Abbildung 7: Ergebnisse Gingivalindex nach Lobene gesamte Mundhöhle (Balkendiagramm)	54
Abbildung 8: Ergebnisse Gingivalindex nach Lobene Entnahmestellen gepoolt	55
Abbildung 9: Ergebnisse Gingivalindex nach Lobene Entnahmestellen gepoolt Balkendiagramm	55
Abbildung 10: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 15	58
Abbildung 11: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 15 (Balkendiagramm)	58
Abbildung 12: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 25	61
Abbildung 13: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 25 (Balkendiagramm)	61
Abbildung 14: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 35	64
Abbildung 15: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 35 (Balkendiagramm)	64
Abbildung 16: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 45	67
Abbildung 17: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 45 (Balkendiagramm)	67
Abbildung 18: Ergebnisse MMP-8	70
Abbildung 19: Ergebnisse MMP-8 (Balkendiagramm)	70
Abbildung 20: Ergebnisse Interleukin 1- β	73
Abbildung 21: Ergebnisse Interleukin-1 β (Balkendiagramm)	73
Abbildung 22: Ergebnisse <i>F. nucleatum</i>	76
Abbildung 23: Ergebnisse <i>T. denticola</i>	79
Abbildung 24: Ergebnisse <i>P. intermedia</i>	81
Abbildung 25: Studienverlauf	91

1 Einführung

Die Untersuchungen befassen sich mit der Therapie der Plaque induzierten Gingivitis unter Verwendung einer Kombination aus Chlorhexidindiglukonat und Natriumfluorid in einem Modell der experimentellen Gingivitis bei Erwachsenen.

In der V. Deutschen Mundgesundheitsstudie wurde festgestellt, dass es positive Entwicklungen bei der Verbreitung von Parodontalerkrankungen in der Bevölkerung gibt. Im Vergleich zur IV. Deutschen Mundgesundheitsstudie hat sich der Anteil an schwerer Parodontitis Erkrankter bei jüngeren Erwachsenen (35- bis 44-Jährige) sowie jüngeren Senioren (65- bis 74-Jähriger) halbiert. Trotz dieser positiven Entwicklung sind mehr als die Hälfte der Untersuchten an einer moderaten bzw. schweren Parodontitis erkrankt (Jordan et al. 2014). Dass eine entzündungsfreie Gingiva maßgeblich mit für einen langfristigen Zahnerhalt verantwortlich ist und eine Gingivitis ein Risiko für die Entstehung von Parodontitiden darstellt, lässt der Therapie von Gingivitiden einen hohen Stellenwert in der zahnärztlichen Praxis zukommen (Chapple et al. 2015, Schätzle et al. 2004). Die etablierte dentale Plaque ist maßgeblich an der Entwicklung parodontaler Erkrankungen beteiligt. Loe et al. konnten bereits im Jahr 1965 in einer Studie darstellen, dass die Entfernung der supragingivalen Plaque, im Falle einer Gingivitis, innerhalb weniger Tage zu entzündungsfreien Zahnfleischverhältnissen führt (Loe et al. 1965). Die Bedeutung der Plaquebeseitigung wird bei der Betrachtung der Studie von Albandar et al. deutlich, in der dargestellt wurde, dass gingivale Entzündungen und subgingivale Beläge zusammen auftretend, zu einem frühzeitigem Abbau des Zahnhalteapparats führen (Albandar et al. 1996).

Bei dem in dieser Studie verwendeten Präparats handelt es sich um ein kosmetisches Mundpflegegel, welches 0,2% Chlorhexidindiglukonat sowie 900 ppm Fluorid als Natriumfluorid enthält.

Chlorhexidindiglukonat verhindert effektiv die Plaquebildung und neues Plaquewachstum (Hefti & Huber 1987, Loe & Schiott 1970, Marchetti et al. 2015, Mor-Reinoso et al. 2015) und wird u.a. in der Therapie von Gingivitiden eingesetzt (Serrano et al. 2015). Chlorhexidindiglukonat wirkt in verschiedenen Darreichungsformen und Kombinationen (Najafi et al. 2012, Pradeep et al. 2012, Todkar et al. 2012). In Verwendung als Spüllösung kann die Wirkung von Chlorhexidindiglukonat effektiv genutzt werden (Charles et al. 2000). Ebenfalls ist Chlorhexidindiglukonat, sowohl als Einzelpräparat als auch in Kombination mit Natriumfluorid, effektiv bei der Reduzierung kariogener Bakterien wie *Streptococcus mutans* (Hanganu & Murariu 2009, Hefti & Huber 1987). Bei der Anwendung nach Induktion einer

experimentellen Gingivitis ist die Genesung bei der zusätzlichen Verwendung von CHX um ein Vielfaches schneller im Vergleich zur alleinigen mechanischen Plaquekontrolle (Bosman & Powell 1977).

Fluoridhaltige Spüllösungen schützen vor Demineralisation der Zahnhartsubstanz, weisen antibakterielle Effekte auf und verhindern die Biofilmentstehung auf der Zahnoberfläche (Hannig et al. 2013). Es inhibiert die Vermehrung subgingivaler beweglicher Bakterien und Spirochäten (Mazza et al. 1981, Svatun 1978). Fluorid wirkt bakterizid gegen *Streptococcus mutans* und findet in der Kariesprävention Anwendung. Fluorid wird in verschiedenen Darreichungsformen verwendet. In Kombination mit Chlorhexidindigluconat konnte sowohl eine antibakterielle als auch eine remineralisierende Wirkung nachgewiesen werden (Andres et al. 1974).

Ziel der vorliegenden Untersuchungen ist es, bei Erwachsenen mit einer über 14 Tage experimentell induzierten Gingivitis eine klinische Veränderung durch Verfolgung eines Gingivalindex, eines Plaqueindex, der Sulkusflüssigkeitsfließrate sowie der biochemischen und mikrobiologischen Variablen im subgingivalen Biofilm zu untersuchen und zwischen einer Verum-, einer Placebo- und einer Kontrollgruppe in einem Zeitraum von 28 Tagen zu vergleichen. Die Nullhypothese ist, dass zwischen den drei Gruppen kein signifikanter Unterschied besteht.

2 Hintergrund

2.1 Epidemiologie der Gingivitis

Bei der Gingivitis handelt es sich um eine entzündliche Veränderung des Zahnfleisches. Hierbei erstreckt sich die Entzündung auf das marginale und suprakrestale Weichgewebe. Klinisch stellt sich die Entzündung durch Bluten bei Sondierung des gingivalen Sulkus und in schweren Fällen durch Rötung und Schwellung des Weichgewebes vorwiegend im Bereich der Papillen dar (Rateitschak 2004).

In der IV. Deutschen Mundgesundheitsstudie wurde ermittelt, dass im Jahr 2005 lediglich 0,5% der 35-44 Jährigen und 1,4% der 65-74 Jährigen eine entzündungsfreie Gingiva aufweisen (Micheelis & Schiffner 2006). Darüberhinaus stieg die Prävalenz parodontaler Erkrankungen im Vergleich zu vorherigen mundgesundheitsbezogenen Untersuchungen signifikant an (DGZMK 2005). Die V. Deutsche Mundgesundheitsstudie belegt eine durchgängige Verbesserung der allgemeinen Mundgesundheit der deutschen Bevölkerung in allen Altersgruppen und sozialen Schichten im Zeitraum zwischen 2013 und 2014 (Jordan et al. 2014). Es wurde ermittelt, dass bei Kindern im Alter von zwölf Jahren eine Gingivitisprävalenz von 77,6% besteht. Dies macht deutlich, dass weiterhin der Bedarf nach Präventionsmaßnahmen auf Populationsebene besteht. Mit steigendem Alter nimmt die Prävalenz der Gingivitis ab, wohingegen die der Parodontitis zunimmt. In der Altersgruppe der 35- bis 44-Jährigen weist jeder Fünfte eine Gingivitis auf. Bei der Altersgruppe der jüngeren Senioren ist dies etwa jeder Dritte. Dem gegenüber steht, dass jeder zweite Erwachsene parodontal erkrankt ist. Dabei sind 43% an einer mittelschweren und 8% an einer schweren Parodontitis erkrankt. Allerdings ist dabei festzustellen, dass sich der Anteil der schweren Parodontitisformen halbiert hat und es zu einer Zunahme parodontaler Gesundheit bzw. milder Entwicklungsformen kam. In Anbetracht der demografischen Entwicklung wird der Behandlungsbedarf von Parodontitiden prognostisch weiter ansteigen (Jordan et al. 2014). Es war festzustellen, dass bei älteren Patienten weniger Karies als Parodontalerkrankungen für den Zahnverlust verantwortlich war (Micheelis & Schiffner 2006). Im Jahr 1998 belegte eine Studie aus Großbritannien eine hohe Prävalenz von sichtbaren Plaquewerten in allen Altersgruppen. Von den bezahnten Erwachsenen wiesen 79% Zahnfleischbluten, 88% Zahnstein und 69% parodontale Taschen auf, darunter 10% mit tiefen Taschen (Marsh & Martin 2003). Eine weitere epidemiologische Studie kam zu dem Ergebnis, dass über 50% der amerikanischen Bevölkerung an einer Gingivitis an durchschnittlich 3-4 Zähnen erkrankt waren (Oliver et al. 1998). Die Gingivitisprävalenz in der französischen Bevölkerung im Jahr 1997 im Alter zwischen 35 und 44 Jahren lag bei 80,4%

(Bourgeois et al. 1997). Der Schweregrad einer Gingivitis kann im zeitlichen Verlauf sehr variieren. In der Pubertät wird ein Höhepunkt erreicht, sinkt anschließend leicht ab und weist mit zunehmendem Alter erneut steigende Tendenzen auf (Stamm 1986). Allerdings kann es bereits bei kurzfristigen Untersuchungswiederholungen zu Schwankungen in Häufigkeit und Schweregrad der Gingivitis kommen (Page 1986, Suomi et al. 1971). Eine Gingivitis bedeutet nicht, dass diese Entzündung auf den Zahnhalteapparat fortschreitet und so eine Parodontitis verursachen muss (Listgarten et al. 1985, Schurch et al. 1991). Eine Proportionalität zwischen Gingivitis und Plaque ist nachweisbar und zeigt so den Zusammenhang zwischen Mundhygiene und Schweregrad der Gingivitis (Hefti et al. 1981, Koivuniemi et al. 1980, Silness & Loe 1964)

2.2 Ätiologie und Pathogenese der Gingivitis

Gingivitis entspricht einem physiologischen Abwehrmechanismus (Clarke & Hirsch 1995) als Reaktion auf die mikrobielle Plaquebesiedlung im zervikalen Zahnbereich (Albandar et al. 1999). Bei einer Gingivitis ist die entzündliche Reaktion auf die marginalen Weichgewebe und supraalveolären Anteile beschränkt (Listgarten 1986). Eine histologisch gesunde Gingiva, d.h. das vollständige Fehlen von Entzündungszellen, ist nur durch die absolute und anhaltende Abwesenheit mikrobieller Plaque möglich, was nur unter experimentellen Bedingungen realisierbar ist (Lang & Lindhe 2015). Bei einer Gingivitis handelt es sich um einen stabilen Zustand, der weder den krestalen Knochen beeinflusst, noch in eine Parodontitis übergehen muss (Clarke & Hirsch 1995, Listgarten et al. 1985, Oliver et al. 1998, Schurch et al. 1991, WHO 1978).

Es gibt zahlreiche Faktoren, welche die Plaqueakkumulation und folglich die Gingivitisentstehung begünstigen können. Dazu gehören Zahnstein, defekte Restaurationen, defekte prothetische Werkstücke, Karies, hoch inserierende Lippenbänder oder kieferorthopädische Apparaturen (Addy et al. 1987, Albandar et al. 1995, Anagnou-Vareltzides et al. 1996, Boyd & Baumrind 1992, Newman 1996, Papapanou 1996). Desweiteren können habituelle Angewohnheiten, wie Mundatmung, oder systemische Faktoren Einfluss auf die Entstehung einer Gingivitis nehmen (Addy et al. 1987, Armitage 1999, Gulati et al. 1998, Jacobson 1973, Wagaiyu & Ashley 1991). Während der Pubertät kommt es zur Veränderung des Hormonhaushalts und damit verbunden zur Veränderung des Plaque-Gingivitis-Verhältnisses und zu einer Zunahme an gingivalen Entzündungen (Bimstein & Matsson 1999, Mombelli et al. 1989). Bei Diabetikern konnte eine deutlich höhere gingivale

Entzündungsrate als bei Nicht-Diabetikern mit ähnlichen Plaquewerten ermittelt werden (Dashash et al. 2007).

Auf die beginnende Bakterienakkumulation reagiert die Gingiva mit typischen Entzündungsreaktionen wie Rötung, Schwellung, Blutung und erhöhte Sulkusflüssigkeitsfließrate. Die epitheliale und vaskuläre Antwort wurde von Kornman et al. folgendermaßen beschrieben: Bakterien sind in der Lage metabolische Produkte freizusetzen. Dazu gehören Fettsäuren, N-Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin und bei gram-negativen Bakterien außerdem noch Lipopolysaccharide. Diese Stoffwechselprodukte aktivieren die Saumepithelzellen zur Ausschüttung von Interleukin-8, Interleukin-1 α , Prostaglandin E₂, Matrixmetalloproteinasen und Tumornekrosefaktor- α als Entzündungsmediatoren. Die epithelialen Produkte und bakteriellen Antigene forcieren perivaskuläre Mastzellen zur Freisetzung von Histamin und Endothelzellen zur Freisetzung von Interleukin-8. Dieser körpereigene Botenstoff der Zytokine wiederum wirkt als Chemotaxin für neutrophile segmentkernige Granulozyten. Zudem senken Interleukin-1 α , Lipopolysaccharide und Tumornekrosefaktor- α den interstitiellen Gewebedruck, wodurch es zu einer raschen Ödembildung kommt (Bletsa et al. 2006, Kornman et al. 1997, Page & Schroeder 1976).

Nach Page und Schröder (Page & Schroeder 1976) wird eine Gingivitis in drei Phasen unterteilt. Innerhalb von 2-4 Tagen reagiert das Gingivagewebe auf die beginnende Akkumulation mikrobieller Plaque mit einer akuten exsudativen Vaskulitis, der sogenannten Initialläsion. Die Initialläsion entspricht einer Bindegewebsreaktion als Antwort auf die Freisetzung von chemotaktischen und antigenen Substanzen aus der mikrobiellen Plaque, während der es bereits zum Abbau von Kollagen kommt. In den darauffolgenden 6 Tagen (2. Phase) entsteht eine frühe Läsion, die mit einer Infiltration von Lymphozyten und anderen mononuklearen Zellen sowie pathologischen Veränderungen der Fibroblasten, Kollagenverlust und einer beginnenden lateralen Proliferation des Saumepithels verbunden ist. Bei der frühen Läsion handelt es sich um eine kurzzeitige Phase, welche lediglich bei Kindern über einen längeren Zeitraum bestehen kann. Bei Erwachsenen geht die Entzündung in die etablierte Läsion (3. Phase) über, die durch eine Vielzahl von Plasmazellen im Infiltrat gekennzeichnet ist. Ein signifikanter Knochenabbau tritt nicht auf. Dieses Entzündungsstadium kann über Jahre oder Jahrzehnte fortbestehen ohne zwangsläufig in eine destruktive Läsion überzugehen.

2.3 Mikrobiologie der experimentellen Gingivitis

Bereits im Jahr 1950 wurde in klinischen Studien dargestellt, dass die Akkumulation von Plaque zu einer gingivalen Entzündung führt (Hine 1950). Sobald die bakteriellen Ablagerungen auf der Zahnoberfläche entfernt werden, ist ein Abklingen der Entzündung zu beobachten (Ramfjord & Kiester 1954, Waerhaug 1955). Mikrobiologische Studien zeigen, dass der Unterschied bei der mikrobiellen Flora zwischen gesunder und entzündeter Gingiva hauptsächlich in der Quantität der Mikroorganismen besteht (Rosebury et al. 1950, Socransky et al. 1963).

Der Beweis für eine bakterielle Gingivitisgenese wurde anhand einer experimentellen Gingivitisstudie im Jahr 1965 durch Löe et al. erbracht. Dabei wurde eine Veränderung der bakteriellen Flora während der Plaqueentwicklung mit einhergehender beginnender gingivaler Entzündung dokumentiert. Das Reifen einer Plaque verursacht Veränderungen im lokalen Milieu, was wiederum das Wachstum bestimmter Bakterienarten fördert. Diese Entwicklung haben Löe et al. in drei Phasen eingeteilt. Die erste Phase umfasst die ersten beiden Tage. In dieser Zeit kommt es zu einer Proliferation der gram-positiven Kokken und Stäbchen und einem Anstieg der gram-negativen Kokken und Stäbchen um 30%. Nach 1-4 Tagen, der zweiten Phase, sind vermehrt Fusobakterien und Filamente mit einem Anteil von ungefähr 7% nachweisbar. In der dritten Phase, 4-9 Tage, kommt es zu einer zusätzlichen Besiedlung mit Spirillen und Spirochäten, welche am Ende der Phase des Mundhygieneverzichts 2% der Mikroflora ausmachen. Nach ungefähr sieben Tagen ungehindertem Plaquewachstum machen die im Ausgangszustand vorherrschenden gram-positiven Kokken und Stäbchen noch 50% der Mikroflora aus. Insgesamt kommt es zu einem Anstieg der Bakterienanzahl und einer Veränderung der bakteriellen Flora zugunsten gram-negativer Mikroorganismen (Löe et al. 1965, Theilade et al 1966.). Es wurde nachgewiesen, dass alle in der Mundhöhle vorkommenden gram-negativen Mikroorganismen Endotoxine enthalten (Mergenhausen et al. 1961). Bei Gingivitispatienten sind bereits vermehrt verschiedene Bakterienstämme in der subgingivalen Plaque nachweisbar (Ma et al. 2015). Bei einer gesunden Gingiva wurden in der dentalen Plaque keine gram-positiven und gram-negativen Kokken und Stäbchen beobachtet, was die potentielle Pathogenität dieser Keime bestätigt (Ma et al. 2015).

2.4 Entstehung, Aufbau und Organisation von Plaque

Die Mundhöhle stellt für über 700 Bakterienspezies einen komfortablen Lebensraum dar (Aas et al. 2005). Die warme und feuchte Umgebung, das regelmäßige Nährstoffangebot und die festen Oberflächen bieten sehr gute Lebensbedingungen für eine Vielzahl von Keimen. Aufgrund der festen nicht erneuerbaren Oberfläche in einem feuchten bakteriell besiedelten Milieu, kommt es zum Ausfallen von Makromolekülen auf dieser Oberfläche (Eickholz 2012). Diese Ablagerungen werden erworbenes Pellikel genannt. Auf dem Pellikel wurden nach ungefähr vier Stunden sogenannte Pionierbakterien nachgewiesen, wie Streptokokken (*S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. oralis*) und eine geringe Anzahl von gram-positiven Stäbchen (*A. oris*). Die anschließende Adhäsion von *S. mutans* auf dem erworbenen Pellikel kommt durch die Lektin-artigen Oberflächenmoleküle und der Bindung mit α -Galaktosidhaltigen Zelloberflächenrezeptoren zustande. Durch die Produktion von extrazellulären Glukanen wird die weitere Akkumulation jener Bakterien gefördert. Die nun vorhandene dentale Plaque wird durch extrazelluläre Polysaccharide stabilisiert, welche durch *S. mutans*, *S. sanguinis*, *S. oralis* und *S. salivarius* gebildet werden. Vor allem die schwerlösliche 1,3 α -Glukanbindung stabilisiert dieses Gerüst. Die sogenannte Glycomatrix erleichtert das Wachstum und Überleben der Bakteriengemeinschaft und schützt diese gleichzeitig vor äußerlichen Abwehrmechanismen. Die Bindung von Streptokokken und *Actinomyces* ssp. ist für die weitere Plaqueentstehung von Bedeutung. Lose anheftende Bakterien werden vermehrt von der Plaqueoberfläche ausgewaschen und die im Speichel befindlichen Bakterien besiedeln die Oberfläche. Aufgrund einer Bakterienumsatzrate von 1-2 Stunden ist die Bakterienproliferation die Hauptursache für die Zunahme der Plaquemenge innerhalb der ersten 24 Stunden. Sofern es weiterhin zu keiner Irritation des Plaquewachstums kommt, wird die bakterielle Zusammensetzung zunehmend komplexer. Es kommt zur Abnahme des Anteils von Streptokokken während der Anteil fakultativ- oder obligat-anaerober *Actinomyces* ssp. steigt. Im weiteren Verlauf sind gram-negative Bakterien, wie *Veillonella* ssp. und gram-negative Stäbchen der Gattung *Fusobakterium*, *Prevotella* und *Porphyromonas* nachweisbar. Nach etwa einer Woche ungestörtem Plaquewachstum sind bewegliche Stäbchen in der Plaque nachweisbar (Brecx et al. 1983, Ramberg et al. 2003, Socransky & Haffajee 2002, Stoodley et al. 2002).

Der so entstandene Biofilm zeichnet sich durch ein Gefälle des pH-Wertes, des Sauerstoffgehalts und des Redoxpotentials aus. Ein primitives Zirkulationssystem ermöglicht den Import von Substraten und den Export von Metaboliten. Es besteht eine enge metabolische Zusammenarbeit unter den Bakterien in diesem Komplex. Ein primitives Kommunikationssystem, sogenanntes Quorum sensing, ermöglicht eine Resistenzbildung

gegenüber Antibiotika. Aufgrund der Organisation in einem Biofilm wird eine 100-1000fach höhere Antibiotikakonzentration zur Bekämpfung der Bakterien benötigt (Kolenbrander et al. 2002, Socransky & Haffajee 2002, Stoodley et al. 2002).

2.5 Gingivitis als Pathogenesefaktor der Parodontitis

Erkrankungen des Zahnhalteapparats entstehen nicht allein aufgrund der Bakterienmenge oder Plaque an sich. Bei parodontalen Entzündungen handelt es sich um opportunistische und dysbiotische Infektionen, bei denen es zu einer Verschiebung des Gleichgewichts von nützlichen zu pathogenen Mikroorganismen kommt (Socransky & Haffajee 2005). Äußere Umstände führen zur Veränderung eines spezifischen Lebensraumes. Dadurch werden bestimmte Mikroorganismen in der Gesamtfloora begünstigt. Dies führt u.U. zu einer verminderten Erregerabwehr, was schließlich einen Kontrollverlust des Wirtsorganismus über die pathogenen Keime zur Folge hat (Müller 2016, Socransky & Haffajee 1992). Eine Gingivitis muss nicht zwangsläufig in eine Parodontitis übergehen (Listgarten et al. 1985, Oliver et al. 1998, Schurch et al. 1991, WHO 1978). Entscheidend für die Entwicklung einer Parodontitis aus einer vorangegangenen Gingivitis sind neben dem Vorhandensein spezifischer Mikroorganismen diverse Wirtsfaktoren (Clarke & Hirsch 1995). Im Verlauf einer Gingivitis lagern sich Bakterien auf der Zahnoberfläche als supragingivale Plaque ab. Durch Maturation des Biofilms erfolgt nach einigen Tagen die Besiedlung durch gram-negative Stäbchen und Filamentbildung (Listgarten et al. 1975, Listgarten 1976). Die Stoffwechselprodukte der Bakterien provozieren eine Entzündungsreaktion, was zu einer verstärkten Exsudation und zur Migration von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (*PMN*) in den Sulkus führt. Durch die Zunahme der *PMN*-Diapedese und der Sulkusflüssigkeitsfließrate wird das Saumepithel aufgelockert. Somit gelangen Bakterien leichter zwischen Zahn und Epithel in den subgingivalen Bereich. Es bildet sich eine gingivale Tasche (Kornman et al. 1997, Rateitschak 2004), wodurch die Bildung eines subgingivalen Plaque-biofilms ermöglicht wird. Mit zunehmenden Sondierungstiefen steigt subgingival der Anteil anaerober Bakterien. In akuten Phasen kann es in parodontalen Taschen zu starken Zunahmen der pathogenen Bakterien kommen. Dennoch lässt sich eine Parodontitis auch in den akuten Zuständen nicht als „hoch-spezifische“ Infektion bezeichnen, da bezüglich des Bakterienbefalls starke Unterschiede zwischen Patienten bestehen und selbst beim gleichen Patienten Unterschiede zwischen den verschiedenen Taschen bzw. befallenen Stellen gefunden werden (Dzink et al. 1988). Bei geschwächter Wirtsabwehr können parodontopathogene Keime in die Tiefe der gingivalen Tasche, ins Taschenepithel und das subgingivale Bindegewebe eindringen. Durch die Produktion von Virulenzfaktoren, wie

Leukotoxinen, Lipopolysacchariden und Enzymen durch die Bakterien werden die polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten gehemmt und teilweise zerstört (Rateitschak 2004). Je nach Umfang der Invasion können resorbierbare Mikronekrosen oder bei massiver Invasion akute eitrige Abszesse die Folge sein (Allenspach-Petrzilka & Guggenheim 1982, Christersson et al. 1987, Saglie et al. 1988, Slots et al. 1999, van Winkelhoff & Slots 1999).

2.6 Wirtsabwehr

2.6.1 Sulkusflüssigkeit

Bei Entzündungen am Gingivarand tritt die Sulkusflüssigkeit als Exsudat aus (Borden et al. 1977). Diese Flüssigkeit durchfließt den Sulkus bzw. die gingivale Tasche. Es wird gebildet als ein Ultrafiltrat des Blutes und beinhaltet Stoffwechselprodukte von Bakterien wie auch Wirtszellen, Blutbestandteile, Antikörper, Komplement- und Proteaseinhibitoren. Aufgrund der Zusammensetzung der Sulkusflüssigkeit lassen sich Rückschlüsse für die Parodontitisdiagnostik ziehen (Goodson 2003).

Anhand der vier histopathologisch zu differenzierenden Phasen in der Entstehung einer parodontalen Tasche lässt sich die Entstehung der Sulkusflüssigkeit erklären. Man unterscheidet die initiale Läsion, die frühe Läsion, die etablierte Läsion und die fortgeschrittene Läsion. Die ersten drei Phasen werden dem Entzündungsgeschehen einer Gingivitis zugeordnet, wohingegen die fortgeschrittene Läsion bereits einer Parodontitis entspricht. Im Allgemeinen hat das Saumepithel eine hohe Umsatzrate und weist weniger desmosomale Zellverbindungen im Vergleich zu anderen oralen Epithelien auf. Kommt es zu einer verstärkten bakteriellen Exposition steigt die zelluläre Umsatzrate des Saumepithels an. Bereits nach einem Tag Plaqueakkumulation sind in der Phase der initialen Läsion folgende charakteristischen Veränderungen diagnostizierbar: Vasodilatation der Arteriolen, Kapillaren und Venolen aus dentogingivalen Plexus, Anstieg des hydrostatischen Drucks und in Folge die weitere Öffnung der Spalten zwischen den Endothelzellen und Kapillaren. Die gesteigerte Gefäßpermeabilität führt zur vermehrten Ansammlung von Flüssigkeiten und Proteinen im Gewebe. Als Konsequenz dieser Kaskade steigt die Exsudation der Sulkusflüssigkeit, wodurch schädigende Substanzen mikrobiellen Ursprungs im Gewebe und Sulkus verdünnt und herausgespült werden (Kornman et al. 1997). Die Menge der Sulkusflüssigkeit, gemessen als Sulkusflüssigkeitsfließrate, ist proportional zum Schweregrad der Entzündungsreaktion und der Tiefe der gingivalen Tasche. Bei gesunder Gingiva hingegen ist keine erhöhte Sulkusflüssigkeitsfließrate nachweisbar (Del Fabbro et al. 2001).

Nach zwei bis vier Tagen kommt es, zusätzlich zu den Gefäßveränderungen, zur vermehrten Migration von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen aus dem subepithelialen Gefäßplexus durch das subepitheliale Bindegewebe (Kornman et al. 1997).

2.6.2 Matrixmetalloproteinase-8

Die Matrixmetalloproteinase-8 (MMP-8) wird als Kollagenase-2 bzw. neutrophile Kollagenase bezeichnet. Es wird angenommen, dass MMP-8 ausschließlich von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten sezerniert wird (Ala-aho & Kahari 2005, Visse & Nagase 2003, Weiss 1989). MMP-8 wird während der Reifung von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten im Knochenmark gebildet, glykosiliert und in subzellulären spezifischen Granulaten gelagert, aus denen sie nach spezifischer Reizeinwirkung freigesetzt werden kann (Ala-aho & Kahari 2005, Hanemaaijer et al. 1997, Visse & Nagase 2003, Weiss 1989). Neutrophile MMP-8 ist im Vergleich zu anderen Matrixmetalloproteinasen stärker glykosiliert. Es wird vermutet, dass MMP-8 als Botensignale für polymorphkernige Granulozyten ausgesendet wird (Ala-aho & Kahari 2005, Hanemaaijer et al. 1997, Visse & Nagase 2003, Weiss 1989). Dies könnte ebenfalls die Sensitivität von neutrophilen MMP-8 auf Aktivierung und Deaktivierung durch reaktive Sauerstoffradikale erklären (Saari et al. 1990, Weiss et al. 1985, Weiss 1989). MMP-8 kann durch verschiedene Zellen aufgrund verschiedener Reize synthetisiert werden. Dazu gehören Gelenkschondrozyten und synoviale bzw. gingivale Fibroblasten, Keratinozyten, Odontoblasten oraler Krebszellen, Makrophagen oder Plasmazellen, welche mit der MMP-8 Ausschüttung auf Reize wie Bronchitis, Asthma, Parodontitis und Arthritis reagieren (Bachmeier et al. 2000, Chubinskaya et al. 1996, Cole et al. 1996, Cole & Kuettner 1995, Hanemaaijer et al. 1997, Kiili et al. 2002, Moilanen et al. 2002, Palosaari et al. 2000, Prikk et al. 2001, Prikk et al. 2002, Tervahartiala et al. 2000, Wahlgren et al. 2001). Ähnlich wie MMP-1 besitzt MMP-8 eine weite Substratspezifität, wodurch sich die Wirkungsstellen mit anderen Kollagenasen überschneiden (Ala-aho & Kahari 2005, Sorsa et al. 2004, Visse & Nagase 2003, Weiss 1989).

Die Aktivität der Matrixmetalloproteinasen kann durch Tissue inhibitors of MMP (TIMP) reguliert werden (Baker et al. 1998, Egeblad & Werb 2002, Folgueras et al. 2004, Kahari & Saarialho-Kere 1999, McCawley & Matrisian 2001, Murphy & Knauper 1997, Visse & Nagase 2003, Woessner 1991). TIMP besitzen sowohl wichtige Struktureigenschaften und die Fähigkeit MMP's zu hemmen als auch spezifische und selektive biochemische Charakteristika und Expressionsprofile (Baker et al. 1998, Egeblad & Werb 2002, Folgueras et al. 2004, Kahari & Saarialho-Kere 1999, McCawley & Matrisian 2001, Murphy & Knauper

1997, Visse & Nagase 2003, Woessner 1991). Die Hauptfunktion der TIMP besteht in der Hemmung und Regulation der MMP. Weitere Funktionen sind der Transport und die Stabilisierung von MMP, die Hemmung der Angiogenese, Förderung der knochenabbauenden Aktivitäten, der Wachstumsfaktor-Aktivitäten sowie der pro- und antiinflammatorischen apoptotischen Funktionen (Shibutani et al. 1999, Sobue et al. 2001, Visse & Nagase 2003). Diese Vielzahl an Funktionen kann nicht durch synthetisch hergestellte MMP-Inhibitoren übernommen werden (Baker et al. 1998, Folgueras et al. 2004, Shibutani et al. 1999, Sobue et al. 2001, Woessner 1991). Aufgrund der starken Assoziation der Expression von MMP-8 und der Expression von TIMP-2 sowie TIMP-3, wird eine vorwiegende Regulation durch diese Gewebsinhibitoren angenommen (Stadlmann et al. 2003).

Die MMP-Aktivität kann sehr verschieden reguliert werden durch Transkriptionshemmung, Hemmung der Sekretion, direkte Hemmung der Aktivität, durch extrazelluläre Inhibitoren, Internalisierung oder den Abbau (Ala-aho & Kahari 2005, Bjorklund & Koivunen 2005, Ding et al. 1996, Egeblad & Werb 2002, Folgueras et al. 2004, Golub et al. 1994, Hanemaaijer et al. 1997, Kahari & Saarialho-Kere 1999, McCawley & Matrisian 2001, Murphy & Knauper 1997, Newman 1996, Saari et al. 1990, Sorsa et al. 2004, Uitto et al. 2003, Visse & Nagase 2003, Weiss et al. 1985, Weiss 1989). Aktivierte MMP's sind in der Lage über eine Aktivierungskaskade weitere MMP's zu stimulieren (Ala-aho & Kahari 2005, Bjorklund & Koivunen 2005, Egeblad & Werb 2002, Golub et al. 1994, Holopainen et al. 2003, Knauper et al. 1996, McCawley & Matrisian 2001, Murphy & Knauper 1997, Seiki 1999, Visse & Nagase 2003).

Über bakterielle Plaque wird die gingivale bzw. parodontale Entzündung hervorgerufen (Potempa et al. 2000, Sorsa et al. 1992, Sorsa et al. 1995, Sorsa et al. 2004, Uitto et al. 2003). Die parodontale Destruktion ist die Folge einer unkontrollierten Entzündungsantwort auf im Biofilm organisierte gram-negative anaerobe parodontopathogene Bakterien und deren Stoffwechselprodukte (Potempa et al. 2000, Sorsa et al. 1992, Sorsa et al. 1995, Sorsa et al. 2004, Uitto et al. 2003). Durch Wirtszellen werden im Rahmen der Entzündungsreaktion pro-inflammatorische Mediatoren (Zytokine und Chemokine) produziert und sezerniert ebenso wie reaktiver Sauerstoff, Prostaglandine und verschiedene Proteinasen (Cox et al. 2006, Ding et al. 1996, Ding et al. 1997, Okamoto et al. 2004, Potempa et al. 2000, Sorsa et al. 2004, Weiss et al. 1985). Aufgrund der Vielzahl pro-inflammatorischer Reize werden das parodontale Gewebe, gingivale Fibroblasten, Monozyten, orale Keratinozyten, Osteoblasten, Osteoklasten und Saume epithelzellen aktiviert, die dann ihrerseits pro-inflammatorische Zytokine, Cystein-Proteasen und Matrixmetalloproteinasen sezernieren (Cox et al. 2006, Ding et al. 1996, Ding et al. 1997,

Hanemaaijer et al. 1997, Okamoto et al. 2004, Potempa et al. 2000, Sorsa et al. 1995, Sorsa et al. 2004, Uitto et al. 2003). Die Freisetzung von Matrixmetalloproteinasen im entzündlichen Parodontium wird durch drei Regulationsmechanismen beeinflusst: 1. durch die Regulation der Transkriptionsrate und Freisetzung, 2. durch Aktivierung der Pro-Enzyme in der extrazellulären Matrix bzw. auf der Zelloberfläche und 3. durch die Regulation bzw. Hemmung der Aktivität durch TIMP (Ala-aho & Kahari 2005, Bjorklund & Koivunen 2005, Egeblad & Werb 2002, Folgueras et al. 2004, Golub et al. 1994, McCawley & Matrisian 2001, Murphy & Knauper 1997, Sternlicht & Werb 2001, Uitto et al. 2003, Visse & Nagase 2003, Woessner 1991).

In der Sulkusflüssigkeit sind eine Vielzahl von Serumproteinen, Entzündungsmediatoren, Zellabbauprodukte, mikrobielle Stoffwechselprodukte und Enzyme nachweisbar (Golub et al. 1994, Sorsa et al. 2004, Uitto et al. 2003). Besonders die Proteinasen wie Matrixmetalloproteinasen, neutrophile Elastasen und Cathepsin G spielen eine zentrale Rolle in der parodontalen Gewebeumsatzrate. Diese Bestandteile geben Aufschlüsse über parodontale Gesundheit bzw. den Krankheitsgrad (Golub et al. 1994, Golub et al. 1998, Kivela-Rajamaki et al. 2003a, Kivela-Rajamaki et al. 2003b, Sorsa et al. 1988, Sorsa et al. 1990, Sorsa et al. 1994, Sorsa et al. 1999, Sorsa et al. 2004, Uitto et al. 2003). Es wurde nachgewiesen, dass MMP-8 und MMP-9 in der Sulkusflüssigkeit während einer Parodontitis vorherrschend sind. Die Konzentration von MMP-8, -9 und -13 nimmt mit dem Schweregrad der Parodontitis zu und nach einer Parodontistherapie durch Scaling And Root Planing ab (Golub et al. 1994, Golub et al. 1998, Kivela-Rajamaki et al. 2003a, Kivela-Rajamaki et al. 2003b, Sorsa et al. 1988, Sorsa et al. 1990, Sorsa et al. 1994, Sorsa et al. 1999). Eine Störung in der Balance zwischen Matrixmetalloproteinasen und TIMP impliziert die Pathogenese einer Parodontitis (Golub et al. 1994, Ingman et al. 1996, Sorsa et al. 2004, Uitto et al. 2003). Deshalb gibt es Bemühungen mit Hilfe pharmakologischer Produkte den Matrixmetalloproteinase-Level zu regulieren und so einen weiteren Ansatz für die Parodontistherapie zu gewinnen (Golub et al. 1994, Golub et al. 1998, Sorsa et al. 1994). Die Entwicklung eines solchen Wirkstoffs gestaltet sich durchaus schwierig. Als Beispiel sei die Anwendung von Batimastat genannt. Hierbei handelt es sich um ein Breitspektrum-antibiotikum als Hydroxaminsäure-haltigen peptidbasierten MMP-Inhibitor. Bei der Anwendung von Batimastat kam es anstelle einer Reduzierung der Parodontitis zu einer Verstärkung der parodontalen Destruktion (Bjornsson et al. 2004). Als Folge daraus schloss man, dass eine gewisse nicht pathologische Konzentration von Matrixmetalloproteinasen benötigt wird, welche eine anti-inflammatorische Wirkung aufweisen (Balbin et al. 2003, Gueders et al. 2005, McMillan et al. 2004, Owen et al. 2004). Im Gegensatz dazu ist ein tetrazyklin-basierter MMP-Inhibitor zur Therapie besser geeignet. Dieser reduziert nur den pathologischen Level von MMP während eine physiologische MMP-Konzentration

fortbesteht. Periostat® (Alliance Pharmaceuticals Limited, Chippenham, Großbritannien) ist ein doxycyclin-basierter MMP-Inhibitor. Die Verwendung dieses Low Dose Doxycyclin (LDD) als systemisch, adjuvante Medikation und zusätzlichem Scaling And Root Planing verbesserte den klinischen Erfolg signifikant (Ashley 1999, Golub et al. 1994, Golub et al. 1998, Preshaw et al. 2004, Sorsa & Golub 2005).

Anhand des MMP-8 Spiegels in der Sulkusflüssigkeit kann zwischen parodontal entzündeten und gesunden Flächen an einem Zahn oder Implantat differenziert werden, ebenso zwischen Gingivitis und Parodontitis (Leppilähti et al. 2014, Mäntylä et al. 2003). Eine kombinierte Messung mit weiteren Markern wie Interleukin-1 β und MMP-8/TIMP Verhältnis sind aufgrund ihrer höheren Aussagekraft interessanter (Rathnayake et al. 2013).

2.6.3 Interleukin-1 β

Interleukin-1 β gehört zu der Interleukin-1 Familie, welche die am stärksten mit der angeborenen Immunantwort in Verbindung zu bringende Zytokinfamilie darstellt. Interleukin-1 besitzt die Hauptaufgabe der Infektionsbekämpfung (Dinarello 2009). Interleukin-1 β weist eine Vielzahl an Funktionen und Eigenschaften auf. Dazu gehört die indirekte Wirkung auf die Immunreaktion. Dies erfolgt durch die Fähigkeit die Genexpression und Synthese von Cyclooxygenase-2 (COX-2) zu induzieren. Desweiteren bewirkt Interleukin-1 β die Initiierung von Typ 2 Phospholipase A sowie Stickstoffsynthase. Durch die Induktion der Stickstoffsynthase kommt es zur Produktion von Prostaglandin-E₂ (PGE₂) (Dayer & Demczuk 1984, Richards & Rutherford 1988, Tatakis et al. 1988), vom Plättchenaktivierenden Faktor (PAF) und Stickstoffoxid. In Folge dessen treten Symptome wie Fieber, eine reduzierte Schmerzschwelle, Vasodilatation und gesenkter Blutdruck auf. Die entstandenen Produkte beeinflussen wiederum die Immunantwort, z.B. Prostaglandin-E₂ als nicht-spezifischer Suppressor der T-Zell-Antwort (Dinarello 2009). Weitere wichtige proinflammatorische Eigenschaften bestehen in der Fähigkeit zur Erhöhung der Expression von Adhäsionsmolekülen wie Interzellular-Adhäsionsmolekül-1 auf mesenchymalen Zellen und Gefäßzell-Adhäsionsmolekül-1 auf endothelialen Zellen. Durch die oben genannten Funktionen von Interleukin-1 β wird die Infiltration immunkompetenter Zellen und Entzündungszellen aus der Zirkulation in den extravaskulären Raum und von hier in das Gewebe unterstützt, wo der Gewebsumbau das Endergebnis einer chronischen Interleukin-1 β induzierten Entzündung darstellt (Dinarello 2009). In Untersuchungen von Tumormetastasen wurde eine gefäßbildende Funktion von Interleukin-1 β nachgewiesen (Voronov et al. 2003). Ebenso hemmt IL-1 β die Knochenbildung (Nguyen et al. 1991,

Stashenko et al. 1987) bzw. induziert die Knochendemineralisation durch die Lösung von Calcium aus diesem (Gowen & Mundy 1986). Durch die Wirkung von Interleukin-1 β wird die Fibroblasten- und Keratinozytenproliferation stimuliert.

Vorwiegend wird Interleukin-1 β aus Monozyten, Gewebsmakrophagen und dendritischen Zellen sezerniert. Aber auch B-Lymphozyten und NK-Zellen sind zur Produktion von IL-1 β befähigt. Bei gesunden Menschen exprimieren im Blut zirkulierende Monozyten oder das Knochenmark nicht zwangsläufig Interleukin-1 β . Hinzukommen einige maligne Tumoren, wie Leukämie, malignes Melanom oder juvenile Leukämie, welche als Teil ihrer neoplastischen Eigenschaften Interleukin-1 β produzieren (Dinarello 2009). Interleukin-1 β besitzt zudem die Fähigkeit, die eigene Produktion induzieren zu können (Boni-Schnetzler et al. 2008, Dinarello et al. 1987, Goldbach-Mansky et al. 2006, Greten et al. 2007).

In Parodontitisläsionen sind erhöhte Interleukin-1 Konzentrationen nachweisbar, wohingegen kein Nachweis in gesunder Gingiva möglich ist. Es wurde ebenfalls eine Korrelation zwischen dem Interleukin-1 Spiegel und dem Gingivalindex nachgewiesen, jedoch keine mit dem Ausmaß vergangener parodontaler Erkrankungen, gemessen zum Attachmentverlust (Honig et al. 1989). Das ist durch die Tatsache zu begründen, dass Parodontitis eine dynamische Erkrankung ist, d.h. Phasen der Ruhe sowie Phasen einer aktiven Entzündung auftreten (Socransky et al. 1984) und dass vom aktuell klinisch vorliegenden Attachmentverlust nicht automatisch auf die zukünftige Krankheitsprogression geschlossen werden kann (Lindhe et al. 1983). Stashenko et al. untersuchten im Jahr 1991 an 12 Patienten mit einer destruktiven Parodontitis verschiedene Stellen auf ihre Interleukin-1 β Konzentration. Hierfür wurden die untersuchten Stellen folgendermaßen eingeteilt: kranke aktive Stellen, kranke inaktive Stellen, welche zusätzlich in Stellen mit geringer Progression des Attachmentverlusts und stabilen Stellen sowie gesunde Stellen differenziert wurden. Bei kranken aktiven Stellen lag das Interleukin-1 β Niveau über dem der inaktiven oder gesunden Stellen. Erkrankte Stellen ohne Progression wiesen einen vergleichbaren Interleukin-1 β Spiegel wie die gesunden Stellen auf, allerdings unterschied sich die Konzentration signifikant von den aktiven Stellen. Die Interleukin-1 β Konzentration bei den kranken, inaktiven Stellen mit leicht progredientem Attachmentverlust lag zwischen der Konzentration der stabil kranken und der aktiv kranken Stellen. Ab einer Interleukin-1 β Konzentration >25ng/mol war häufiger eine Krankheitsaktivität festzustellen. Daraus schließend lässt sich Interleukin-1 β als wichtiger Mediator vom Attachmentverlust bezeichnen (Stashenko et al. 1991).

2.7 Parodontopathogene Keime

Die Mundhöhle wird von über 700 verschiedenen Mikroorganismen besiedelt (Aas et al. 2005). Innerhalb einer parodontalen Tasche können 300 verschiedene Spezies in einer Konzentration von bis zu 10^8 Mikroorganismen pro Messpunkt nachgewiesen werden (Moore & Moore 1994). Im Jahr 1992 stellten Socransky und Haffajee folgende Postulate auf, welche die pathogene Rolle der in der Mundhöhle vorkommenden Bakterien bei der Genese und dem Fortbestehen einer Parodontitis bewertet und klassifiziert (Socransky & Haffajee 1992):

1. Assoziation: Orale Pathogene sind mit aktiven parodontalen Läsionen assoziiert. An gesunden Stellen oder bei anderen Formen der Erkrankung sollten sie nicht vorhanden sein.
2. Elimination: Die Elimination des Pathogens führt zur Heilung der Erkrankung. Sollte die Reduzierung der Keimzahl nicht gelingen, kommt es zur Progression der Erkrankung.
3. Wirtsantwort: Das Vorhandensein der zellulären und/oder humoralen Immunantwort auf das potentielle Pathogen ist üblich.
4. Virulenzfaktoren: Das Pathogen sollte Virulenzfaktoren produzieren, welche mit der Histopathologie der Erkrankung korrelieren.
5. Tierversuche. Das Pathogen verursacht im Tierversuch vergleichbare Krankheitsbilder.

Man geht davon aus, dass einige der subgingival vorkommenden Mikroorganismen besonders häufig bzw. in besonders hoher Zahl mit parodontaler Destruktion assoziiert sind. Dazu gehören u.a. *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* und *Treponema denticola* (Eickholz 2012).

2.7.1 *Fusobacterium nucleatum*

F. nucleatum gehört zu den gram-negativen, obligat anaeroben Bakterien und kommt ubiquitär in der Mundhöhle vor. *F. nucleatum* wird in drei Subspezies unterteilt: *ssp. nucleatum*, *ssp. polymorphum*, *ssp. fusiforme* (Breed 1994, Gharbia et al. 1990). *F. nucleatum polymorphum* wird häufiger an nicht erkrankter Gingiva gefunden, wohingegen vor allem *ssp. nucleatum* und in geringerer Konzentration *ssp. fusiforme* an erkrankten Parodontaltaschen nachweisbar sind (Gharbia et al. 1990).

F. nucleatum gehört zu den Bakterienspezies, welche eng mit der Entwicklung einer parodontalen Erkrankung assoziiert sind (Moore et al. 1991). Dabei weist *F. nucleatum* eine enge Beziehung zu adulten und juvenilen Formen der Parodontitis auf (Feng et al. 2014, Joshi & Vandana 2007, Stingu et al. 2012). Bei der Bildung einer dentalen Plaque lassen sich die verschiedenen Bakterien anhand des zeitlichen Verlaufs der Besiedlung der Plaque unterscheiden. Hierbei differenziert man in Früh- und Spätkolonialisierer (Moore & Moore 1994, Nyvad & Kilian 1987, Socransky et al. 1998). *F. nucleatum* lässt sich nicht in diese Kategorien einteilen. Es nimmt eine Zwischenrolle in der Plaqueformation ein und hat folglich einen besonderen Stellenwert für diese. *F. nucleatum* weist eine sehr hohe Aggregationsfähigkeit auf und ist in der Lage, mit allen Früh- und Spätkolonialisierern Verbindungen einzugehen (Andersen et al. 1998, Kolenbrander et al. 1989, Kolenbrander et al. 2006, Kolenbrander & Andersen 1989, Lancy et al. 1983). Das Bakterium agiert als eine Brücke zwischen den verschiedenen Besiedlungsphasen der Plaque, womit das Vorkommen sowohl an gesunden als auch an erkrankten Stellen erklärbar wäre (Kolenbrander et al. 2006). *F. nucleatum* wirkt hemmend auf die Proliferation der in der dentalen Plaque vorkommenden Fibroblasten durch die Produktion von toxischen Metaboliten wie Butyrat, Propionat, Ammonium-Ionen (Lamont 2006). Zudem besitzt das Bakterium ein sehr potentes Lipopolysaccharid und ist neben der Beteiligung an Parodontitiden ebenfalls in der typischen bakteriellen Flora eines akuten dentogenen Abszesses vorhanden (Moore et al. 1991, Oguntebi et al. 1982). In der extrazellulären Matrix geht *F. nucleatum* starke Bindungen mit Fibronectin und Typ IV Kollagen ein (Lamont 2006). Es wurde nachgewiesen, dass *F. nucleatum* Adhesin FadA enthält, welches eine wichtige Rolle bei der Bindung und Invasion des Bakteriums an der bzw. in die Wirtszelle spielt (Liu et al. 2014). *F. nucleatum* ist in der Lage, in Epithelzellen einzudringen. Diese Invasion wird von einer hohen Sekretion des pro-inflammatorischen Zytokins Interleukin-8 begleitet (Lamont 2006). Innerhalb der Epithelzellen und Granulozyten ist *F. nucleatum* in der Lage, die Apoptose zu induzieren. Neben Epithelzellen und Granulozyten bildet *F. nucleatum* Bindungen an Polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten, Makrophagen, Lymphozyten, HeLa-Zellen und Fibroblasten (Lamont 2006). Zudem interagiert und bindet *F. nucleatum* an Plasminogen. *F. nucleatum* ist selbst nicht proteolytisch aktiv, kann aber in Verbindung mit hoch proteolytisch aktivem *P. gingivalis* den Fusobakterium-Plasminogen-Komplex zu einem Fusobakterium-Plasmin-Komplex aktivieren (Darenfed et al. 1999).

2.7.2 *Prevotella intermedia*

Prevotella intermedia gehört zu den schwarz-pigmentierten, gram-negativen, anaeroben Stäbchen, welche üblicherweise Bestandteile der polymikrobiellen Flora verschiedener Infektionen des Menschen sind (Finegold et al. 1993, Shah & Gharbia 1992). Das Bakterium weist vier verschiedene Formen von Fimbrien auf, welche anhand ihrer Durchmesser differenziert werden. Typ und Ausmaß der Fimbrien variieren unter den verschiedenen Stämmen von *P. intermedia*. So kommt es teilweise vor, dass eine Art mehrere Fimbrienformen oder auch keine aufweist (Lamont 2006).

Ursprünglich wurden zwei Genotypen (I und II) von *P. intermedia* beschrieben, die eine DNA-Homologie von etwa 40% aufweisen (Johnson & Holdeman 1983, van Steenberg et al. 1997). Im Jahr 1992 wurden die *Prevotellaspezies* durch Shah und Gharbia neu differenziert in: *P. intermedia* als Genotyp I und *P. nigrescens* als Genotyp II (Shah & Gharbia 1992). Verschiedene Studien belegen, dass das ursprüngliche *P. intermedia* serologisch heterogen ist (Dahlen et al. 1990, Gharbia et al. 1994, Gmur & Guggenheim 1983). Daraufhin wurde *P. intermedia* in weitere fünf Serotypen unterschieden. Serotyp I stellt hierbei das neue *P. intermedia* dar und ist häufiger mit tiefen parodontalen Taschen assoziiert als die anderen Serotypen (Dahlen et al. 1990). Eine hohe biochemische Ähnlichkeit von *P. intermedia* und *P. nigrescens* besteht zu *P. pallens* (Kononen et al. 1998a).

P. intermedia steht nachweislich in Zusammenhang mit parodontalen Erkrankungen (Gharbia et al. 1994, Matto et al. 1996), während *P. nigrescens* und *P. pallens* auch in parodontal gesunden Subjekten nachweisbar sind (Conrads et al. 1996, Gharbia et al. 1994, Kononen et al. 1998b, Matto et al. 1996). In ihren Studien belegen Stingu und Mitarbeiter eine signifikante Assoziation zwischen *P. nigrescens* und Parodontitis (Stingu et al. 2013). *P. nigrescens* tritt zudem bei endodontischen Infektionen in erhöhter Konzentration auf (Gharbia et al. 1994, Lie et al. 2001, Maeda et al. 1998).

Pigmentierte *Prevotellaspezies* sind in der Regel aufgrund der β -Lactamaseproduktion resistent gegenüber Penizillin (Appelbaum et al. 1990, Kinder et al. 1986, Kononen et al. 1997, Lie et al. 2001, van Winkelhoff et al. 1997). Die Prävalenz β -Lactamase produzierender Keime in subgingivaler Plaque von Patienten mit Parodontitis ist im Allgemeinen hoch, kann jedoch in Abhängigkeit von der geographischen Herkunft der Probanden, den verschiedenen Probenentnahmestellen und der individuellen antibiotischen Vorgeschichte variieren (Beem et al. 1998, Kononen et al. 1997, Matto et al. 1999). Auf Grund der Expression der Immunglobulin G-abbauenden Protease bzw. Immunglobulin A1-Protease weist *P. intermedia* eine Vielzahl proteolytischer Aktivitäten auf. Zudem weist *P.*

intermedia nukleolytische, lipolytische und saccharolytische Aktivitäten auf (Jansen et al. 1995, Lamont 2006, Shibata et al. 1993). Desweiteren wirkt *P. intermedia* immunsuppressiv auf B- und T-Zellen, ist in der Lage in eukaryotische Zellen einzudringen (Dorn et al. 1999) und haftet an Epithelzellen (Leung et al. 1989). Lipopolysaccharide und weitere Oberflächenkomponenten induzieren die Ausschüttung von inflammatorischen Zytokinen/ Lymphokinen wie Interleukin-1, Interleukin-6 und Interleukin-8 (Lamont 2006). Zudem weist *P. intermedia* hämolytische Aktivität auf (Beem et al. 1998, 1999, Okamoto et al. 1999). In parodontal kompromittierten Geweben werden Hämolysin-produzierende Bakterien vermehrt nachgewiesen (Hillman et al. 1993). Folglich kamen Beem et al. zu der Hypothese, dass Hämolysin die Pathogenität der Mikroorganismen unterstützen könnte, indem es die Häminkonzentration in der parodontalen Läsion erhöht oder die Wirtszellen zum Gewebsabbau anregt (Beem et al. 1999).

2.7.3 *Treponema denticola*

Treponema denticola wird zu der Gruppe der oralen Spirochäten gezählt. Dabei handelt es sich um gram-negative, obligat anaerobe, spiralförmige und sehr bewegliche Mikroorganismen (Lamont 2006).

Eine Vielzahl an verschiedenen oralen Spirochäten kann in parodontalen Taschen nachgewiesen werden (Moter et al. 1998). Zu diesen oralen Spirochäten gehört *T. denticola*, welches sowohl adhäsive wie auch invasive Eigenschaften aufweist und so zur parodontalen Destruktion beiträgt (Fenno & McBride 1998). In den parodontalen Taschen war eine Assoziation von *T. denticola* mit dem Saume epithel zu beobachten. Zudem zeigte sich, dass der Mikroorganismus an Wirtszellen, am Gewebe sowie an Matrixproteinen haftet (Holt & Bramanti 1991, Olsen 1984, Sela et al. 1987, Thomas 1996, Uitto et al. 1995, Weinberg & Holt 1990).

Der Nachweis von *T. denticola* ist eng mit Parodontitiden verbunden. Es besteht eine direkte Proportionalität zwischen dem Anteil subgingivaler Spirochäten und dem Plaqueindex, der gingivalen Exsudation, dem Gingivalindex, der Blutungstendenz, der Taschentiefe, dem Attachmentlevel und dem parodontalen Entzündungsindex (Armitage et al. 1982). In tiefen parodontalen Taschen bei Patienten mit schwerer Parodontitis ist die Konzentration von *T. denticola* signifikant höher als in Taschen bei Patienten mit einer moderaten Parodontitis. Mit Zunahme des Krankheitsgrades kommt es zu einem signifikanten Anstieg der Keimzahl von *T. denticola* (Simonson et al. 1990). Der Nachweis von *T. denticola* und anderen nicht weiter identifizierten Spirochäten geht nicht zwangsläufig mit einer Parodontitis einher, allerdings ist

der Nachweis mit einer erhöhten Empfänglichkeit für eine gingivale Entzündung verbunden (Riviere & DeRouen 1998). Mit dem Abbau von parodontalem Gewebe während einer Parodontitis kommt es zu einem Anstieg des Anteils von gingivalen Spirochäten (Listgarten & Levin 1981). Die Reduzierung der gingivalen Tasche und der Rückgang der Entzündung als Folge einer Parodontitistherapie wird begleitet von der Abnahme der *Treponema* Population (Loesche 1988). In Plaqueproben, welche vor parodontalchirurgischen Eingriffen gesammelt wurden, war der Bakterienkomplex von *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *T. denticola* und anderen Spirochäten zu 80-100% nachweisbar (Loesche et al. 1992).

T. denticola besitzt eine Vielzahl an Virulenzfaktoren. Es ist in der Lage an Kollagen-bindenden Proteinen, an Kollagen anderer Bakterien sowie an als Barriere im Verfahren der Guided Bone Regeneration eingebrachten Kollagenmembran zu haften (Grenier 1992a, Kolenbrander et al. 1995, Onagawa et al. 1994, Sela et al. 1999, Umemoto et al. 1997, Yao et al. 1996). Von besonderem Interesse sind die verschiedenen Interaktionen von *T. denticola* mit anderen Bakterien, allen voran *P. gingivalis* (Grenier 1992a, 1992b, Yao et al. 1996). *T. denticola* hat verschiedene proteolytische und zytolytische Eigenschaften, welche zusammen mit der hohen Beweglichkeit des Mikroorganismus dessen invasive Eigenschaften zu fördern scheinen (Holt & Bramanti 1991, Mikx 1997, Pietrantonio et al. 1988, Rosen et al. 1995, Syed et al. 1993, Uitto et al. 1995). Auf der Oberfläche von *T. denticola* wird die Chemotrypsin-like Protease exprimiert, die vermutlich ein Mediator für die zytopathischen Effekte ist (Fenno et al. 1998a, Fenno et al. 1998b, Ishihara & Okuda 1999). Die Chemotrypsin-like Protease wurde in verschiedenen Studien untersucht. Diese belegen die hydrolytische Wirkung auf Transferrin, Fibrinogen, Alpha-1-Antitrypsin, Immunglobulin A, Immunglobulin G, Gelatin, Albumin, Kollagen IV, Fibronectin, synthetische Peptide mit Phenylalanin sowie auf verschiedene Protease-Inhibitoren des Wirtsorganismus. Allerdings wirkt es nicht hydrolytisch auf Kollagen I oder Arginin bzw. Prolin enthaltende synthetische Substrate (Fenno et al. 1998a, Grenier et al. 1990, Grenier 1996, Ishihara et al. 1996, Rosen et al. 1995, Uitto et al. 1988). Sowohl die natürliche als auch die rekombinante Chemotrypsin-like Protease scheinen an Epithelzellen zu binden und zytotoxisch auf diese zu wirken (Fenno et al. 1997, Fenno et al. 1998b). *T. denticola* kann sich an verschiedene Zellen und zelluläre Strukturen heften, wie z.B.: Fibroblasten und Epithelzellen (Ellen et al. 1994, Haapasalo et al. 1996, Keulers et al. 1993a, 1993b, Weinberg & Holt 1990), extrazelluläre Matrixkomponenten in parodontalem Gewebe (Dawson & Ellen 1990, Haapasalo et al. 1991) sowie Hyaluronan, das ein wichtiger Bestandteil des Bindegewebes ist (Haapasalo et al. 1996). Der Verbund von *T. denticola* mit humanen Gingivazellen und Fibroblasten hat große Veränderungen der Zellmorphologie zur Folge, u.a. kommt es zur Schrumpfung und zellulären Abrundung (Baehni et al. 1992, Filippo et al. 1995). Zudem wird

der Kalziumstoffwechsel gehemmt und somit kommt es zu einer Beeinflussung der kalziumabhängigen Kanäle an Fibroblasten. Mithilfe von Lipoproteinen und spezifischen Lipooligosacchariden kann *T. denticola* sowohl sauerstoffabhängige als auch sauerstoff-unabhängige Mechanismen der Polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten beeinflussen (Sela et al. 1997). Obwohl *T. denticola* obligat anaerob ist, besitzt es einen selbst bei der geringen Sauerstoffkonzentration in der parodontalen Tasche nachweisbaren Sauerstoffstoffwechsel und enthält Enzyme, welche zumindest einen moderaten Schutz gegen reaktive Sauerstoffspezies darstellen (Caldwell & Marquis 1999). In Tierexperimenten mit Mäusen wirkte *T. denticola* dosisabhängig stimulierend auf die Produktion von Stickstoffmonoxid, TNF- α und IL-1 in Makrophagen (Rosen et al. 1999). Weitere zytopathische Effekte von *T. denticola* auf Fibroblasten sind: die Inhibition der Fibroblastenproliferation (Boehringer et al. 1984), Unterdrückung der Lymphozytenantwort (Shenker et al. 1984), Hemmung der Superoxidproduktion von Leukozyten (Sela et al. 1988, Sela et al. 1997), Steigerung der Kollagenphagozytose durch gingivale Fibroblasten (Battikhi et al. 1999), Aktivierung von IL-1 β (Beausejour et al. 1997), Förderung der Knochenresorption *in vitro* (Gopalsami et al. 1993) und die Induktion von Faltungen in der Plasmamembran (Baehni et al. 1992).

2.8 Therapie der plaqueinduzierten Gingivitis

Die Therapie einer Gingivitis beruht auf der mechanischen und chemischen Plaquekontrolle. Diese sollte mehrmals täglich durch häusliches Zähneputzen erfolgen. Ergänzt kann diese Therapie durch eine Professionelle Zahnreinigung werden, bei der die supragingivale Plaque entfernt wird (Lamont 2006, Lang et al. 1998). Durch das Entfernen der supragingivalen Plaque und dem Fehlen von Blüten auf Sondieren ist eine Krankheitsprogression nahezu auszuschließen (Lang et al. 1990).

In einer Langzeitstudie haben Axelsson und Lindhe 375 Probanden in zwei Gruppen aufgeteilt. In eine Testgruppe, in der die Probanden alle zwei bis drei Monate zu Präventivbehandlungen, Mundhygieneinstruktion und akribischen Prophylaxemaßnahmen, wie Entfernung von Belägen, einbestellt wurden. Die Kontrollgruppe erhielt keine Präventivmaßnahmen. Die Kontrollen erfolgten einmal jährlich und umfassten, wenn notwendig, symptomatische Behandlungen. Die Parameter wurden nach 3, 6, 15 und 30 Jahren aufgenommen. Nach 30 Jahren konnte in der Gruppe, der die Präventivmaßnahmen zugänglich war, eine geringe Kariesinzidenz und nahezu kein Verlust von parodontalem Stützgewebe nachgewiesen werden. Es wurde geschlussfolgert, dass

Präventivmaßnahmen, welche den Patienten zur zweckmäßigen oralen Hygienegewohnheit motiviert, Gingivitis abbauen können, eine Progression der Parodontitis verhindern und vor Karies schützen. Im Gegensatz dazu konnte eine traditionelle zahnärztliche Betreuung das Fortschreiten von Karies und Parodontitis nicht verhindern. Die Studie kam zu zwei Hauptaussagen: Die zwei wichtigsten Erkrankungen der Mundhöhle, Karies und Parodontitis, können vollständig verhindert werden und dieses Ziel kann nur erreicht werden durch einen enormen Arbeitsaufwand (Axelsson et al. 1991, Axelsson et al. 2004, Axelsson & Lindhe 1978, 1981).

2.9 Fluoridierung

Fluoride und Chlorhexidindiglukonat gehören zu den Schlüsselkomponenten der Präparate zur oralen Gesundheitsförderung und chemotherapeutischen Mundspülungen (Shellis & Duckworth 1994, Vitkov et al. 2005). In den vergangenen Jahrzehnten wurde ein Rückgang der Kariesinzidenz in den industrialisierten Ländern beobachtet, welcher eng im Zusammenhang mit der Zunahme der Fluoridverwendung gebracht wird (Brambilla 2001). Die Hemmung der Demineralisierung und die Förderung der Remineralisierung werden als Haupteffekte der Fluoride in der oralen Prophylaxe angesehen (Duncan et al. 1999, Shellis & Duckworth 1994). Darüberhinaus haben Fluoride im oralen Bereich bakterizide und antimikrobielle Eigenschaften, in dem sie den Stoffwechsel der Bakterien beeinflussen (Keyes & McCabe 1973, Yost & VanDemark 1978). Am Beispiel von *Streptococcus mutans* wurde nachgewiesen, dass Fluorid die Enolase und die „proton-extruding“ ATPase hemmt sowie zur Ansäuerung des Zytoplasmas führt (Koo 2008, Pandit et al. 2011, van Loveren 2001). Zudem haben Amin- und Natriumfluorid einen erheblichen inhibitorischen Effekt auf den Prozess der initialen Bakterienadhäsion und auf das Bakterienwachstum sowohl auf der Schmelz- als auch der Dentinoberfläche (Hannig et al. 2013). Die Adhäsion von *S. mutans* Stämmen auf den Pellikeln war deutlich reduziert nach der Verwendung von Aminfluorid und die Anzahl toter Bakterien war in der mit fluoridierter Mundspülung behandelten Gruppe erheblich höher als in der Kontrollgruppe ohne Fluoridbehandlung (Hannig et al. 2013, van der Mei et al. 2008). Bei der Verwendung von Aminfluorid in Gelform wurde das Wachstum von in subgingivalen Belägen vorhandenen Bakterienpopulationen gehemmt (Bansal et al. 1990, Bullock et al. 1989). In einem Tiermodell hatte die Verwendung von Zinnfluorid nicht nur einen positiven Effekt auf den Plaque- sondern auch auf den Gingivitislevel (McDonald et al. 1978, Tinanoff et al. 1978). Nach der Spülung mit fluoridierter Mundspüllösung oder nach dem Zähneputzen mit fluoridierter Zahnpasta verbleibt ein gewisser Anteil von Fluorid auf

der Zahnoberfläche, der Mukosa oder auch in nicht entfernten Belägen und dient somit als Reservoir (Otten et al. 2010).

2.10 Chlorhexidindiglukonat

Chlorhexidindiglukonat (CHX) findet u.a. in Form einer antiseptischen Mundspüllösung zu Prophylaxemaßnahmen in der Zahnmedizin Verwendung. Sie wird verwendet, wenn die mechanische Mundhygiene nicht möglich ist und dient zur Unterstützung in der Prävention und Therapie von Gingivitiden und Parodontitiden (Cannell 1981, Ciano 1994, Demke 2012). Aufgrund der antibakteriellen Wirksamkeit, der hohen Substantivität und der entzündungshemmenden Wirkung wird es als orales Antiseptikum verwendet (Eley 1999).

Bei Chlorhexidindiglukonat handelt es sich um ein kationisches Bisbiguanid. Es weist hydrophobe und lipophile Eigenschaften auf und interagiert mit den Phospholipiden und Lipopolysacchariden der Membran von Bakterienzellen und kann diese überwinden (Dynes et al. 2006). Bereits im Jahr 1954 wurde die antibakterielle Wirkung von CHX gegen gram-positive und gram-negative Bakterien sowie Bakteriensporen nachgewiesen (Davies et al. 1954). Durch die Erhöhung der Permeabilität der Bakterienzellwand (Gjerme 1975) und der Zerstörung der zytoplasmatischen Membran (Kuyyakanond & Quesnel 1992) wird der zytotoxische Effekt erreicht. Diese Effektivität konnte bislang in einer Vielzahl an klinischen und laboratorischen Untersuchungen bestätigt werden (Dogan et al. 2003, Herrera 2013, Lorenz et al. 2006). Schon nach einmaliger Anwendung einer 0.2 %igen CHX-Lösung ist in der darauffolgenden Woche der Anteil von Spirochäten und motilen Bakterien deutlich reduziert. Die mikrobiologische Kolonisation verändert sich in Richtung Kokken. Ebenso ist eine verminderte Anzahl von blutenden Messstellen auf Sondieren nachweisbar. Über einen Zeitraum von vier Wochen hält diese Verbesserung an, nach zehn Wochen ist der Ausgangszustand wieder erreicht (Lander et al. 1986). Da die orale Mukosa anionisch geladen ist, besteht eine hohe Affinität zwischen dieser und dem kationischen Chlorhexidindiglukonat (Winrow 1973). Nach einer Spülung mit CHX verbleiben ca. 30% des Moleküls als Reservoir im Mund, wo es durch sogenanntes „slow release“ kontinuierlich abgegeben wird (Bonesvoll et al. 1974, Gjerme 1975). Aufgrund dieses „slow release“ ist 24 Stunden nach der Spülung noch eine Konzentration von 1µg/ml CHX vorhanden (Bonesvoll 1977). Die längere Verfügbarkeit von CHX am Zielort scheint einen größeren Effekt zu haben als die antibakterielle Wirksamkeit (Gjerme & Eriksen 1974). Die hohe Substantivität entsteht durch die starke Bindung von CHX an das anorganische Material (Bonesvoll & Gjerme 1978, Rølla & Melsen 1975). Da Mikroorganismen, extrazelluläre Polysaccharide und

Speichelproteine anionisch geladen sind, bestehen Bindungen zwischen diesen und CHX (Rølla et al. 1971). Bei einer *in vitro* Untersuchung wurde die Bindung von CHX an den Schmelzbestandteil Hydroxylapatit festgestellt. Sobald die Konzentration von CHX in der Umgebung sinkt, wird es langsam abgegeben (Rølla et al. 1970).

Bei zweimal täglichem Spülen mit 10ml einer 0,2%iger CHX-Lösung wird die Entwicklung von Plaque und Gingivitis, trotz des Verzichts auf weitere Mundhygienemaßnahmen, vollständig verhindert (Löe & Schiott 1970). Bereits eine Mundspüllösung mit 0,1% CHX wirkt präventiv gegen Plaquebildung bzw. verspätet diese bei gesunden oralen Verhältnissen ebenso wie in entzündeten Gingiva-Bereichen (Ramberg et al. 1996). Bei dreimal täglicher Anwendung von 0,12% Chlorhexidindiglukonat über einen Zeitraum von drei Wochen ohne zusätzliche Mundhygiene wurde ebenfalls eine Gingivitisprävention festgestellt (Brecx et al. 1989). Die Verwendung von CHX in der Therapie von parodontalen Erkrankungen wird empfohlen (Bollen et al. 1998, Quirynen et al. 1995). Als Nebenwirkung bei einer Langzeitanwendung von CHX kommt es zu Farbbelegungen, welche stärker sind als mit anderen Spüllösungen, wie Meridol® (Brecx et al. 1993) oder Listerine® (Addy et al. 1995, Eldridge et al. 1998). Desweiteren sind vermehrte Zahnsteinbildung (Charles et al. 2004) und Geschmacksirritationen (Lorenz et al. 2006) zu beobachten.

3 Ziel der Untersuchung

Ziel der Untersuchungen war es, die klinische Wirkung eines Kombinationspräparates von 0,2% Chlorhexidindigluconat und 900 ppm Fluorid in Form von Natriumfluorid, Cervitec® Gel (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) zu ermitteln. Auf der Grundlage einer plaqueinduzierten, experimentellen Gingivitis sollen folgende Fragen gestellt werden:

- Verändern sich die klinischen Variablen signifikant im Verlauf der Untersuchung?
- Verändern sich die biochemischen Variablen signifikant im Verlauf der Untersuchung?
- Verändern sich die mikrobiologischen Variablen signifikant im Verlauf der Untersuchung?
- Unterscheidet sich die Verumgruppe signifikant von der Placebo- bzw. Kontrollgruppe in der Entwicklung der klinischen Variablen?
- Unterscheidet sich die Verumgruppe signifikant von der Placebo- bzw. Kontrollgruppe in der Entwicklung der biochemischen Variablen?
- Unterscheidet sich die Verumgruppe signifikant von der Placebo- bzw. Kontrollgruppe in der Entwicklung der mikrobiologischen Variablen?

Die Nullhypothese ist, dass zwischen den drei Gruppen kein signifikanter Unterschied besteht.

4 Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig genehmigt (054-13-13032013). Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden Probanden über einen Zeitraum von sechs Wochen untersucht. Alle Teilnehmer wurden über den Umfang, den Aufbau sowie über die Risiken bei der Teilnahme aufgeklärt. Die Bereitschaft zur Beteiligung wurde von allen Untersuchten durch die Unterzeichnung einer Einwilligungserklärung bestätigt.

Es bestanden folgende Einschlusskriterien:

- Alter zwischen 20 und 39 Jahren
- gesunde Gingiva bzw. leichte Gingivitis
- mindestens 20 Zähne
- keine Parodontitis
- keine Antibiotikaeinnahme innerhalb der letzten drei Monate

Es bestanden folgende Ausschlusskriterien:

- Schwangerschaft und Stillzeit
- Ausschluss von Patienten ≤ 18 Jahre
- Allergien auf die Inhaltsstoffe von Cervitec® Gel
- Patienten mit Endokarditisrisiko
- Herzklappenpatienten
- Patienten mit Implantaten oder alloplastischen Materialien im Kontakt zum Blutkreislauf
- Patienten mit septischer Vorgeschichte
- Patienten mit Zahnimplantaten
- Patienten mit Tendenz zu Schlupfwinkelinfektion (insbesondere teilretinierte Weisheitszähne)
- Patienten mit therapiebedürftigen kariösen Läsionen

4.1 Probandenakquise und Stichprobengröße

Vor Studienbeginn wurde eine umfangreiche Probandenakquise durchgeführt. Diese umfasste Vorträge vor Studierenden im ersten bis fünften Studienjahr Zahnmedizin und

Vorträge vor dem gesamten ersten Studienjahr des Studienganges Medizin an der Universität Leipzig. Desweiteren wurden Flugblätter verteilt und Aushänge an öffentlichen Plätzen sowie im Internet positioniert. Insgesamt konnten schätzungsweise mehr als 1000 Menschen erreicht werden. Zur Erstuntersuchung erklärten sich 87 Menschen bereit, von denen 21 die Ein- und Ausschlusskriterien erfüllten und an der Studie teilnahmen.

4.2 Untersuchungsaufbau und –ablauf

Tabelle 1: Untersuchungsaufbau

<u>T-1</u>	<u>T0</u>	<u>T1</u>	<u>T2</u>	<u>T3</u>
Beginn des Mundhygiene-verzichts	Baseline 14 Tage nach dem Mundhygiene-verzicht/ Beginn Wiederaufnahme der Mundhygiene	14 Tage nach Wiederaufnahme der Mundhygiene	21 Tage nach Wiederaufnahme der Mundhygiene	28 Tage nach Wiederaufnahme der Mundhygiene
Anamnese	QHI	QHI	QHI	QHI
QHI	Gingivalindex nach Lobene	Gingivalindex nach Lobene	Gingivalindex nach Lobene	Gingivalindex nach Lobene
Gingivalindex nach Lobene	Sulkusflüssigkeitsfließrate	Sulkusflüssigkeitsfließrate	Sulkusflüssigkeitsfließrate	Sulkusflüssigkeitsfließrate
PSI	Biochemische Untersuchungen	Biochemische Untersuchungen	Biochemische Untersuchungen	Biochemische Untersuchungen
Kariesstatus	Mikrobiologische Untersuchungen	Mikrobiologische Untersuchungen	Mikrobiologische Untersuchungen	Mikrobiologische Untersuchungen

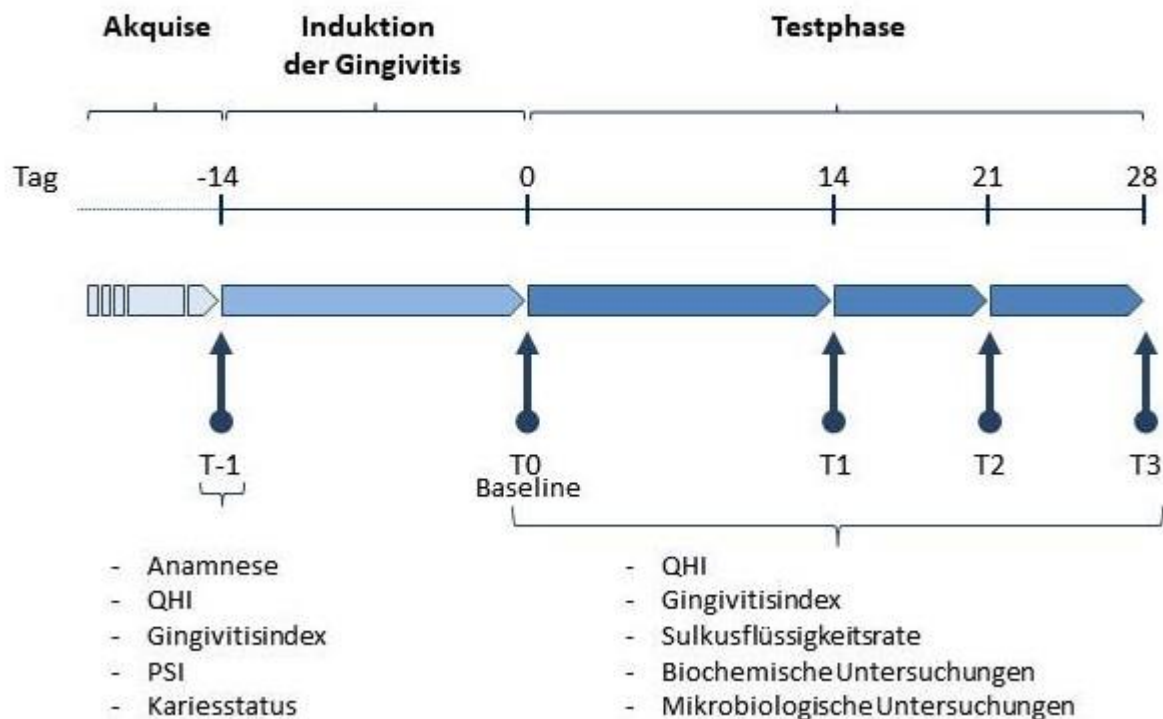


Abbildung 1: Studienverlauf

Die Studie erstreckte sich über insgesamt sechs Wochen (Abbildung 1). Entsprechend den Ein- und Ausschlusskriterien (siehe 4.) nahmen 21 Probanden an dieser Studie teil.

Wie in Tabelle 1 und Abbildung 1 zu sehen ist, erfolgte zu Beginn der Studie die Voruntersuchung (T-1). In dieser Untersuchung wurde der Kariesstatus aufgenommen, um kariöse Läsionen auszuschließen. Ebenso wurden der Plaqueindex (Turesky-Modifikation des Quigley-Hein-Indexes, (Turesky et al. 1970), der modifizierte Gingivalindex (Lobene et al. 1986) und der PSI (Charles & Charles 1994, Cutress et al. 1987) erfasst. Im Anschluss daran erfolgte der 14-tägige Mundhygieneverzicht. Nach Ablauf dieser zwei Wochen wurde die Untersuchung T0, Baseline, aufgenommen. Zu dieser Untersuchung erfolgte eine computergestützte, randomisierte, doppelt verblindete Zuordnung der 21 Probanden in drei Gruppen á 7 Personen.

Gruppe 1: Die Probanden verwendeten nach dem 14-tägigen Mundhygieneverzicht bis zum Studienende das zu analysierende Präparat Cervitec® Gel Verum gemäß den Anweisungen.

Gruppe 2: Die Probanden verwendeten nach dem 14-tägigen Mundhygieneverzicht Cervitec® Gel Placebo, das statt CHX und Fluorid, Konservierungsstoffe und Parabene enthielt. Die Anwendung erfolgte ebenso wie in Gruppe 1 den Vorgaben entsprechend bis zum Studienende.

Gruppe 3: Die Probanden verwendeten nach dem 14-tägigen Mundhygieneverzicht keine zusätzlichen Präparate

Die ersten beiden Gruppen wurden über die Verwendung des Gels aufgeklärt. Das Gel wurde im Zeitraum T0 bis T3 angewandt und sollte mit ca. 2,5 g einmal täglich auf den Gingivarand aller Zähne aufgetragen werden. Das Gel sollte dabei alle Flächen (oral, vestibulär, approximal) gleichmäßig erreichen. In der darauffolgenden Stunde war das Essen und Trinken untersagt. Alle drei Gruppen wurden instruiert, die Mundhygiene wieder aufzunehmen, welche zweimal täglich mit der Zahnpasta Elmex® Kariesschutz (CP GABA GmbH, Hamburg, Deutschland, laurylsulfatfreie Zahnpasta) und einer Oral-B® Handzahnbürste (Procter & Gamble Service GmbH, Cincinnati, USA), ausgegeben durch den Untersucher, jeweils für zwei Minuten mit einem 1 cm langen Zahnpastastrang, erfolgen sollte.

Während der Testphase (T0 – T3), d.h. nach Wiederaufnahme der Mundhygiene, wurden regelmäßig Proben genommen und die zu prüfenden Parameter bestimmt. Die erste Untersuchung war T0 als Baseline, die zweite Untersuchung (T1) erfolgte nach 14, die dritte Prüfung (T2) nach 21 und die abschließende Kontrolle (T3) nach 28 Tagen (Abbildung 1).

Mit Beginn der Testphase (T0) bis einschließlich der Abschlusskontrolle (T3) wurden einheitliche Parameter nach standardisierten Methoden erhoben. Geprüft wurden Plaque- (Turesky et al. 1970) und Gingivitisindex (Lobene et al. 1986). Die Auswertung dieser Indizes erfolgte bezogen auf die gesamte Mundhöhle sowie gepoolt für die Entnahmestellen an den Zähnen 15, 25, 35, 45.

Zur Bestimmung der Sulkusflüssigkeitsfließrate und zur Gewinnung des Probenmaterials für die biochemischen Untersuchungen wurde an 15 bukkal, 25 oral, 35 bukkal, 45 oral unter relativer Trockenlegung für 30 Sekunden in einer superfiziellen, intrakrevikulären Methode (Griffiths 2003) jeweils ein Periopaperstreifen (Periopaper™, Oraflow, Smithtown, New York, USA) eingebracht. An dem Periopaperstreifen wurde chairside mittels eines zuvor kalibrierten Periotron 8000 (Oraflow Inc. Smithtown, New York, USA) die Sulkusflüssigkeitsfließrate gemessen. Die gewonnenen Proben eines Probanden wurden gepoolt und bis zur Aufarbeitung bei -20°C gelagert.

Die Entnahme des mikrobiologischen Probematerials erfolgte an denselben Stellen wie zuvor die Bestimmung der Sulkusflüssigkeitsfließrate bzw. die Probeentnahme für die biochemischen Untersuchungen. Dazu wurden Papierspitzen (ISO 60, Roeko GmbH, Langenau, Deutschland) unter relativer Trockenlegung für 30 Sekunden an den oben genannten Stellen in die gingivale Tasche eingeführt. Wie zuvor wurden die gewonnenen Proben eines Probanden gepoolt und bis zur Aufarbeitung bei -20°C gelagert. Die biochemischen und mikrobiologischen Variablen wurden im Mikrobiologischen Labor der Klinik für Parodontologie in Bern, Schweiz durch Frau Prof. Dr. Eick analysiert und ausgewertet.

4.3 Klinische Befunderhebung

4.3.1 Erhebung des Plaqueindex

Zur Bestimmung des Plaqueindex (Turesky-Modifikation des Quigley-Hein-Indexes) wurde die dentale Plaque auf den mit Luftbläser getrockneten Zahnflächen mit einem Plaquerevelator (Mira 2-Ton®, Hager & Werken, Duisburg, Deutschland) angefärbt. Visuell wurden, wie in Tabelle 2 beschrieben, anhand der Kontinuität und Breite der Plaque die verschiedenen Schweregrade ermittelt (Turesky et al. 1970).

Tabelle 2: Turesky-Modifikation des Quigley-Hein-Index

Grad 0	keine Plaque
Grad 1	Kronenoberfläche mit vereinzelt Plaqueinseln bedeckt
Grad 2	Kronenoberfläche mit einer geschlossenen Plaquelinie im zervikalen Drittel bedeckt
Grad 3	Kronenoberfläche im zervikalen Drittel mit Plaque bedeckt
Grad 4	Kronenoberfläche mit mehr als einem Drittel und bis zu Zweidrittel mit Plaque bedeckt
Grad 5	Kronenoberfläche mit mehr als Zweidrittel von Plaque bedeckt

4.3.2 Erhebung des Gingivalindex nach Lobene

Anhand des Gingivitisindex (modifizierter Gingivalindex nach Lobene) lassen sich das Auftreten sowie der Schweregrad einer sich am Gingivarand manifestierenden Entzündung beurteilen. Der Vorteil der Modifikation dieses Indexes besteht in der Beurteilung durch Inspektion, d.h. es kann vollständig auf das Sondieren verzichtet werden. Desweiteren ist die

Bewertung zwischen einer milden und moderaten Entzündung sensibler gestaltet. Im Rahmen der Untersuchungen wurde der Index ausschließlich von einer zuvor instruierten Person (P. W.) erhoben, um interindividuelle Abweichungen zu vermeiden. Bei den Untersuchungen wurden an jeweils sechs Stellen (mesio-bukkal, bukkal, disto-bukkal, mesio-oral, oral, disto-oral) pro Zahn, ausgenommen Weisheitszähne, Messwerte erhoben. Die verschiedenen Schweregrade sind in Tabelle 3 dargestellt (Lobene et al. 1986).

Tabelle 3: Modifizierter Gingivalindex nach Lobene

Grad 0	keine Entzündung
Grad 1	leichte Entzündung mit ausschließlich punktueller Farb- und Texturveränderung
Grad 2	leichte Entzündung mit auf marginale bzw. papilläre Einheit beschränkte Farb- und Texturveränderung
Grad 3	moderate Entzündung mit glasiger, ödematösen Oberflächenstruktur und/oder Hypertrophie der marginalen bzw. papillären Einheit
Grad 4	schwere Entzündung mit Rötung, Schwellung, Volumenvergrößerung der Gingiva mit spontanen Blutungen

4.3.3 Bestimmung der Sulkusflüssigkeitsfließrate

Zur korrekten Bestimmung der Sulkusflüssigkeitsfließrate ist die Entnahme von Sulkusflüssigkeit über einen definierten kurzen Zeitraum erforderlich. Um das Risiko einer Irritation des krevikulären Gewebes zu minimieren, erfolgte die Probenahme im empfohlenen Zeitintervall von 30 Sekunden (Lamster et al. 1986) sowie in Anwendung des superfiziellen intrakrevikulären Verfahrens (Griffiths 2003) an insgesamt vier Stellen, an den Zähnen 15 und 35 bukkal, 25 und 45 oral, unter Verwendung genormter Filterpapierstreifen (Periopaper™, Oraflow, Smithtown, New York, USA). Die Sulkusflüssigkeitsfließrate wurde unmittelbar nach der Gewinnung bestimmt. Dadurch wurden potentielle Fehler durch Verdunstung des Probematerials (Sulkusflüssigkeit) bis zur Erfassung des Messwertes vermieden (Whitford et al. 1981). Die Bestimmung der Sulkusflüssigkeitsfließrate beruht auf der Veränderung der dielektrischen Konstante zwischen zwei Messungen (Standard und Probe) und ermöglicht gleichzeitig Aussagen zum Schweregrad einer Gingivitis. Je höher die gemessene elektrische Kapazität desto schwerwiegender ist die Entzündung (Tabelle 4). Die Periopaper pro Probanden wurden nach Erfassung der messtechnischen Daten gepoolt und bis zur Durchführung der quantitativ biochemischen Untersuchungen bei -20°C gelagert.

Tabelle 4: Sulkusflüssigkeitsfließrate

Sulkusflüssigkeitsfließrate	Diagnose
0 – 10	gesunde Gingiva
11 – 39	leichte Gingivitis
≥ 40	etablierte Gingivitis, ggf. Parodontitis

4.3.4 Quantitative biochemische Untersuchungen

Die Auswertung der biochemischen Variablen (MMP-8 und IL-1 β) erfolgte durch Frau Prof. Eick (Mikrobiologisches Labor der Klinik für Parodontologie Bern, Schweiz). Das mittels Periopaper gewonnene Sulkusflüssigkeitsprobenmaterial in 750 μ l einer Phosphat gepufferten Natriumchloridlösung über Nacht bei 4°C inkubiert. Anschließend wurden die Spiegel von MMP-8 und IL-1 β mittels ELISA (R&D Systems Europe Ltd, Abingdon, UK) entsprechend den Herstellerangaben ermittelt. Die Nachweisgrenze der Kits betrug 37,5 pg/Site für MMP-8 und 3,75 pg/Site für IL-1 β (Jentsch et al. 2016).

4.3.5 Mikrobiologische Untersuchungen

Die im Rahmen dieser Studie durchgeführten mikrobiologischen Analysen im subgingival entnommenen Biofilm erfolgten durch Frau Prof. Dr. Eick vom Mikrobiologischen Labor der Klinik für Parodontologie in Bern, Schweiz. Zur Bewertung der antibakteriellen Wirkung von Cervitec® Gel gegen gram-negative Bakterien wurde die Keimzahl von *F. nucleatum*, *T. denticola* und *P. intermedia* indirekt über den Genomnachweis der Erreger ermittelt. Die Durchführung erfolgte mit der standardisierten und validierten Methode der Echtzeit-PCR (qPCR), wie von Eick und Mitarbeitern evaluiert und beschrieben (Eick et al. 2011).

Die Isolierung der bakteriellen DNA aus den Biofilmproben erfolgte unter Verwendung des DNA Extraktionssystems High Pure PCR Template Preparation Kit (Fa. Roche, Mannheim, Deutschland) nach Vorgaben des Herstellers. Die anschließend durchgeführte qPCR ist eine sensitive, reproduzierbare und spezifische Nachweismethode in der DNA-Analytik (Saiki et al. 1985). Es ist ein Verfahren zur Vervielfältigung von Nukleinsäuren bei gleichzeitiger Quantifizierung der amplifizierten DNA durch fluorometrische Messung der produzierten PCR-Produkte. Die ermittelten cq-Werte (cycle quantification; ehemals cycle threshold ct, (Bustin et al. 2009)) geben Rückschluss über die Keimzahl des jeweiligen Erregers im Probenmaterial, d.h., je geringer der cq-Wert, desto höher ist die Keimzahl.

Im Rahmen der Studie wurde ein Bereich des Bakteriengenoms amplifiziert, der für die 16S RNA kodiert. Die Vervielfältigung erfolgte unter Verwendung spezifischer Oligonukleotide (Primer), die bereits für die Identifizierung der Erreger *F. nucleatum* (Avila-Campos et al. 1999), *T. denticola* und *P. intermedia* (Ashimoto et al. 1996) beschrieben wurden (Tabelle 5).

Die erhaltenen PCR-Produkte wurden durch den Einsatz des DNA interkalierenden Fluoreszenzfarbstoffes SYBR Green quantifiziert. Zum Ausschluss unspezifischer Bindungen von SYBR Green (z.B. an Primer-Dimere) wurde im Anschluss an die PCR eine Schmelzkurvenanalyse durchgeführt.

Für jede Probe einschließlich der Positiv- und Negativ-Kontrollen wurden Duplikate angesetzt. Je Reaktion wurden in einem 20 µl Gesamtansatz 2 µl der extrahierten DNA in 1x PCR-Puffer, 200 mM dNTP, 0.5 µM der jeweiligen Primer und der Sybr Green Sonde, 2.75 mM MgCl₂ und 1 Einheit Taq Polymerase (Fa. Fermentas Life Science; St. Leon-Rot; Deutschland) vermischt. Die Amplifizierung und Quantifizierung erfolgte im qPCR Cycler RotorGene 2000. (Corbett Research; Sydney; Australien) Nach einem initialen Denaturierungsschritt der DNA bei 95 °C für 5 Minuten erfolgte die Inkubation des Reaktionsgemisch unter folgenden Bedingungen: Denaturierung 95°C, 15 Sekunden; Annealing 60°C bzw. 58°C (*P. intermedia*) 20 Sekunden; Extension 72°C 20 Sekunden über 45 Zyklen. Die Datenaufnahme zur Fluoreszenzemission erfolgte während der Annealingphase. Als Positiv-Kontrolle wurde die DNA der Referenzbakterien *F. nucleatum*, *T. denticola* und *P. intermedia* verwendet. Steriles destilliertes Wasser diente als Negativkontrolle. Die Bewertung der analytischen Sensitivität dieses Tests wurde mit standardisiertem Material der Referenzbakterien in den Ausgangskonzentrationen von 10² bis 10⁷ evaluiert (Bustin et al. 2009, Eick et al. 2011).

Tabelle 5: Primer zur Amplifizierung des 16 S RNA Genbereiches für die Erreger *F. nucleatum*, *T. denticola* und *P. intermedia*

Erreger	Primer Sequenz 5' → 3'	
	forward	reverse
<i>F. nucleatum</i>	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG	GTC ATC GTG CAC ACA GAA TTG CTG
<i>T. denticola</i>	TAA TAC CGA ATG TGC TCA TTT ACA T	TCA AAG AAG CAT TCC CTC TTC TTC TTA
<i>P. intermedia</i>	CGT GGA CCA AAG ATT CAT CGG TGG A	CCG CTT TAC TCC CCA ACA AA

4.4 Statistische Datenanalyse

Die Eingabe der erhobenen anamnestischen, klinischen und mikrobiologischen Daten erfolgte mit der Software Excel (Microsoft Office Excel 2003, USA). Anschließend wurden die vorbereiteten Daten in das Statistikprogramm SPSS 11.5.1 (IBM Corporation, New York, NY, USA) transferiert und statistisch ausgewertet.

Die Mittelwerte, Standardabweichungen und Mediane der Gruppen wurden für die jeweiligen Indizes und Untersuchungszeitpunkte für die gesamte Mundhöhle und die Probenentnahmestellen (SFFR und Biofilm) berechnet. Der Gruppenvergleich erfolgte mittels Kruskal-Wallis-Test, Mediantest, Mann-Whitney-U-Test, Friedman-Test, Wilcoxon-Test und der ANOVA-Analyse. Die Messwertdifferenzen zwischen den Untersuchungszeitpunkten wurden mit dem gepaarten t-Test analysiert. Zur Bestimmung der Fallzahl erfolgte eine Poweranalyse (Faul et al. 2007, Faul et al. 2009). Das Signifikanzniveau wurde auf $p \leq 0,05$ festgelegt. Als eine Tendenz zur Signifikanz wurde $0,05 < p < 0,1$ angesehen.

5 Ergebnisse

5.1 Probandencharakterisierung

Die Studie wurde im Jahr 2014 durchgeführt. In der Tabelle 6 sind die demographischen Daten der Probanden dargestellt.

Tabelle 6: Demographische Probandendaten

Variable		Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
Probandenzahl		7	7	7
Alter (Jahre)	\bar{x}	23,57	23,43	24,86
	s	$\pm 2,56$	$\pm 2,87$	$\pm 2,1$
	χ	24	25	25
Altersbereich (Jahre)		19-27	19-27	22-29
Geschlecht	weiblich	3	6	3
	männlich	4	1	4
Zahnzahl	\bar{x}	29,00	28,14	28,00
	s	$\pm 1,41$	$\pm 0,35$	$\pm 1,41$
	χ	28	28	28

Insgesamt nahmen 21 Personen an der Studie teil. Die Probanden wurden randomisiert den drei Untersuchungsgruppen á sieben Personen zugeteilt. Das Durchschnittsalter lag bei Gruppe 1 bei 23,57 Jahren, bei Gruppe 2 bei 23,43 Jahren und bei Gruppe 3 bei 24,86 Jahren. Die Altersspanne aller Teilnehmer lag zwischen 19 und 29 Jahren. Alle Probanden haben den sechswöchigen Untersuchungszyklus beendet.

5.2 Poweranalyse

Zunächst wurde eine Poweranalyse durchgeführt. Diese erfolgte einmal als Vergleich der reinen Gruppenunterschiede (Tabelle 7) und ein weiteres Mal unter Berücksichtigung von Wechselwirkungen, d.h. die gegenseitige Beeinflussung von Gruppen und Zeit (Tabelle 8). Die Poweranalyse ergab, dass die Stichprobengröße bei dieser Untersuchung zu gering war.

Bei der Betrachtung der reinen Gruppenunterschiede hätten für eine Power von 95% ($1-\beta = 0,95$) durchschnittlich 476,7 Probanden, für eine Power von 80% ($1-\beta = 0,8$) durchschnittlich

300,6 Probanden teilnehmen müssen. Bei dieser Studie wurde eine Power von 21% ($1-\beta = 0,21$) unter Betrachtung der reinen Gruppenunterschiede und eine Power von 25% ($1-\beta = 0,25$) bei Berücksichtigung der Wechselwirkungen erreicht.

Unter Berücksichtigung von Wechselwirkungen, d.h. die gegenseitige Beeinflussung von Zeit und Gruppen, hätte es eine Stichprobengröße für die Power von 95% ($1-\beta = 0,95$) von 156,3 und für eine Power von 80% ($1-\beta = 0,8$) von 104,4 bedurft.

Tabelle 7: Poweranalyse im Gruppenvergleich

Indikator	$f(\eta^2)$ gegebene Effektstärke	$1-\beta$ Gegebene Power	$1-\beta = 0,95$ Benötigte Prodandenzahl für 95% Power	$1-\beta = 0,90$ Benötigte Prodandenzahl für 90% Power	$1-\beta = 0,80$ Benötigte Prodandenzahl für 80% Power
Plaque 0-3	0,16	0,08	585	483	369
GI 0-3	0,29	0,16	192	159	123
Plaque_mess	0,19	0,09	447	366	282
GI_mess	0,29	0,16	189	156	120
SFFR_15	0,90	0,89	27	24	18
SFFR_25	0,30	0,17	177	144	114
SFFR_35	0,28	0,15	201	165	129
SFFR_45	0,34	0,20	144	120	93
MMP-8	0,07	0,06	1740	1425	1086
IL 1- β	0,08	0,06	2565	2103	1605
<i>F. nucleatum</i>	0,26	0,13	240	198	153
<i>T. denticola</i>	0,27	0,24	135	11	84
<i>P.intermedia</i>	0,15	0,10	444	366	279

**Tabelle 8: Poweranalyse unter Berücksichtigung von Wechselwirkungen
(Beeinflussung durch Zeit und Gruppen)**

Indikator	$f(\eta^2)$ gegebene Effektstärke	$1-\beta$ Power	$1-\beta = 0,95$ Benötigte Probandenzahl für 95% Power	$1-\beta = 0,90$ Benötigte Probandenzahl für 90% Power	$1-\beta = 0,80$ Benötigte Probandenzahl für 80% Power
Plaque 0-3	0,02	0,09	366	306	240
GI 0-3	0,32	0,33	75	63	51
Plaque_mess	0,24	0,19	129	108	87

GI_mess	0,29	0,28	87	75	60
SFFR_15	0,29	0,26	93	78	63
SFFR_25	0,32	0,32	75	66	51
SFFR_35	0,27	0,24	102	87	69
SFFR_45	0,12	0,08	495	417	327
MMP-8	0,08	0,10	342	288	225
IL 1-β	0,31	0,30	81	69	54
<i>F. nucleatum</i>	0,36	0,42	60	51	42
<i>T. denticola</i>	0,07	0,09	459	384	300
<i>P. intermedia</i>	0,14	0,21	132	111	87

5.3 Klinische Variablen

5.3.1 Plaqueindex (Quigley-Hein-Index)

Wie in Tabelle 9 und Abbildung 2 und 3 zu sehen ist, betrug der Quigley-Hein-Index zum Zeitpunkt T-1, d.h. vor Beginn des Mundhygieneverzichts, $\bar{x} = 0,84$ in der Gruppe 1, $\bar{x} = 0,42$ in der Gruppe 2 und $\bar{x} = 0,48$ in der Gruppe 3. Nach Induktion der experimentellen Gingivitis stiegen die Werte bis auf ein Maximum von $\bar{x} = 3,84$ in der Gruppe 3 an. In den folgenden Untersuchungen sanken die Messwerte und erreichten zum Abschluss der Studie Werte von $\bar{x} = 0,81$ in Gruppe 1, $\bar{x} = 0,83$ in Gruppe 2 und $\bar{x} = 0,98$ in Gruppe 3. Die ermittelten QHI-Werte der Probeentnahmestellen sind in der Tabelle 9 sowie Abbildung 4 und 5 dargestellt. Zum Zeitpunkt T-1 lagen die Werte bei der Gruppe 1 bei $\bar{x} = 0,46$, bei Gruppe 2 bei $\bar{x} = 0,43$ und bei Gruppe 3 bei $\bar{x} = 0,32$. Nach dem zweiwöchigen Mundhygieneverzicht stiegen die Werte deutlich an, bei Gruppe 1 auf $\bar{x} = 3,04$, bei Gruppe 2 auf $\bar{x} = 3,04$, bei Gruppe 3 auf $\bar{x} = 2,96$. Im weiteren Studienverlauf sanken die Werte. Zum Zeitpunkt T1 wurden Werte von $\bar{x} = 0,54$ bei Gruppe 1, von $\bar{x} = 0,83$ bei Gruppe 2, von $\bar{x} = 0,68$ bei Gruppe 3 erreicht. Bei der Gruppe 1 war zum Zeitpunkt T2 der niedrigste Werte von $\bar{x} = 0,39$ festzustellen. Zum gleichen Zeitpunkt lagen die Werte bei der Gruppe 2 bei $\bar{x} = 0,68$ und bei Gruppe 3 bei $\bar{x} = 0,61$. Zur Abschlussuntersuchung wurden für Gruppe 1 ein Wert von $\bar{x} = 0,50$, für Gruppe 2 von $\bar{x} = 0,43$ und für Gruppe 3 von $\bar{x} = 0,50$ erhoben.

In den Tabellen 10 - 12 sind die statistischen Analysen des Quigley-Hein-Indexes für die gesamte Mundhöhle zusammengefasst. Der Mann-Whitney-U-Test zum Zeitpunkt T-1 war sowohl beim Vergleich der Gruppe 1 mit der Gruppe 2 ($p = 0,085$) als auch beim Vergleich der Gruppe 1 mit Gruppe 3 ($p = 0,096$) tendenziell signifikant. Im Friedman-Test wurde bei Gruppe 1 ($p = 0,080$) eine Tendenz zur Signifikanz ermittelt. Bei den Gruppen 2 und 3 ergab

dieser Test eine Signifikanz mit $p < 0,001$. Im Wilcoxon-Test der Gruppe 1 an den Messstellen waren die Unterschiede der Messwerte zwischen den Zeitpunkten T0 zu T-1 ($p = 0,028$), T1 zu T0 ($p = 0,028$), T2 zu T0 ($p = 0,020$) und T3 zu T0 ($p = 0,028$) signifikant. Beim Wilcoxon-Test der Gruppe 2 war das Ergebnis zwischen den Zeitpunkten T0 zu T-1 ($p = 0,018$), T1 zu T0 ($p = 0,018$), T2 zu T0 ($p = 0,018$), T3 zu T0 ($p = 0,018$) und T3 zu T-1 ($p = 0,043$) signifikant. Der Wilcoxon-Test bei der Gruppe 3 ergab signifikante Ergebnisse zwischen den Untersuchungszeitpunkten T0 zu T-1 ($p = 0,018$), T1 zu T0 ($p = 0,018$), T2 zu T0 ($p = 0,018$), T3 zu T0 ($p = 0,018$) und T2 zu T-1 ($p = 0,028$).

Bei der statistischen Analyse des Quigley-Hein-Index an den Messstellen ergab der Friedman-Test signifikante Differenzen für Gruppe 1 ($p = 0,004$), Gruppe 2 ($p = 0,001$) und Gruppe 2 ($p = 0,001$). Im Wilcoxon-Test der Gruppe waren die Unterschiede der Zeitpunkte T0 zu T-1 ($p = 0,016$), T1 zu T0 ($p = 0,018$), T2 zu T0 ($p = 0,018$), T3 zu T0 ($p = 0,018$) signifikant. Bei der Gruppe 2 ergab der Wilcoxon-Test zwischen den Zeitpunkten T0 zu T-1 ($p = 0,017$), T1 zu T0 ($p = 0,017$), T2 zu T0 ($p = 0,017$) und T3 zu T0 ($p = 0,017$) signifikante Abweichungen. Diese Ergebnisse wurden durch den Wilcoxon-Test bei der Gruppe 3 mit T0 zu T-1 ($p = 0,017$), T1 zu T0 ($p = 0,018$), T2 zu T0 ($p = 0,018$), T3 zu T0 ($p = 0,018$) bestätigt.

Tabelle 9: Quigley-Hein-Index zu den Zeitpunkten T-1 bis T3

Index	T-1			T0			T1			T2			T3		
	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ
QHI															
Gr. 1	0,84	0,49	0,89	2,94	0,86	3,27	1,00	0,88	0,48	0,88	0,75	0,57	0,81	0,91	0,30
Gr. 2	0,42	0,33	0,36	3,65	1,44	3,39	1,22	1,13	0,91	1,15	1,13	0,73	0,83	0,69	0,79
Gr. 3	0,48	0,32	0,50	3,84	1,49	3,33	1,14	0,70	0,96	0,99	0,78	0,94	0,98	0,71	0,98
QHI-Mess															
Gr. 1	0,46	0,42	0,50	3,04	0,27	3,00	0,54	0,39	0,50	0,39	0,45	0,50	0,50	0,43	0,50
Gr. 2	0,43	0,43	0,50	3,04	0,34	3,00	0,83	0,46	0,50	0,68	0,55	0,50	0,43	0,43	0,50
Gr. 3	0,32	0,24	0,50	2,96	0,34	3,00	0,68	0,40	0,75	0,61	0,50	0,50	0,50	0,38	0,50

Tabelle 10: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test Quigley-Hein-Index

Kruskal-Wallis Test QHI						Kruskal-Wallis Test QHI Messstellen				
	T-1	T0	T1	T2	T3	T-1	T0	T1	T2	T3
p	0,134	0,631	0,824	0,773	0,682	0,799	0,862	0,601	0,539	0,925
Mediantest QHI						Mediantest QHI Messstellen				
	T-1	T0	T1	T2	T3	T-1	T0	T1	T2	T3
p	0,263	0,466	0,826	0,466	0,466	0,159	0,807	0,558	0,497	1,00
Mann-Whitney-U-Test QHI Gruppe 1 und 2						Mann-Whitney-U-Test QHI Messstellen Gruppe 1 und 2				
	T-1	T0	T1	T2	T3	T-1	T0	T1	T2	T3
p	0,085	0,565	0,654	0,406	0,482	0,843	0,895	0,387	0,269	0,692
Mann-Whitney-U-Test QHI Gruppe 1 und 3						Mann-Whitney-U-Test QHI Messstellen Gruppe 1 und 3				
	T-1	T0	T1	T2	T3	T-1	T0	T1	T2	T3
p	0,096	0,338	0,565	0,701	0,482	0,589	0,643	0,392	0,421	0,948
Mann-Whitney-U-Test QHI Gruppe 2 und 3						Mann-Whitney-U-Test QHI Messstellen Gruppe 2 und 3				
	T-1	T0	T1	T2	T3	T-1	T0	T1	T2	T3
p	0,655	0,749	0,848	0,949	0,654	0,547	0,554	0,844	0,946	0,790

Tabelle 11: T-Test der Messwertdifferenzen Quigley-Hein-Index

T-Test der Messwertdifferenzen QHI Gruppe 1 und 2				T-Test der Messwertdifferenzen QHI Messstellen Gruppe 1 und 2		
	ΔQHI T1/T0	ΔQHI T2/T0	ΔQHI T3/T0	ΔQHI_{mess} T1/T0	ΔQHI_{mess} T2/T0	ΔQHI_{mess} T3/T0
p	1,00	0,940	0,781	0,376	0,392	0,758
T-Test der Messwertdifferenzen QHI Gruppe 1 und 3				T-Test der Messwertdifferenzen QHI Messstellen Gruppe 1 und 3		
	ΔQHI T1/T0	ΔQHI T2/T0	ΔQHI T3/T0	ΔQHI_{mess} T1/T0	ΔQHI_{mess} T2/T0	ΔQHI_{mess} T3/T0
p	0,705	0,654	0,748	0,497	0,404	0,828
T-Test der Messwertdifferenzen Gruppe 2 und 3				T-Test der Messwertdifferenzen QHI Messstellen Gruppe 2 und 3		
	ΔQHI T1/T0	ΔQHI T2/T0	ΔQHI T3/T0	ΔQHI_{mess} T1/T0	ΔQHI_{mess} T2/T0	ΔQHI_{mess} T3/T0
p	0,614	0,511	0,930	0,847	1,00	0,637

Tabelle 12: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Quigley-Hein-Index

Friedman-Test QHI						Friedman-Test QHI Messstellen				
	Gruppe 1		Gruppe 2		Gruppe 3	Gruppe 1		Gruppe 2		Gruppe 3
p	0,080		< 0,001		< 0,001	0,004		0,001		0,001
Wilcoxon-Test QHI Gruppe 1						Wilcoxon-Test QHI Messstellen Gruppe 1				
	T0	T1	2	T3	T3	T0	T1	T2	T3	T3
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T-1	T0	T0	T0	T-1	T-1	T0	T0	T0	T-1
p	0,028	0,028	0,020	0,028	0,866	0,016	0,018	0,018	0,018	1,00
Wilcoxon-Test QHI Gruppe 2						Wilcoxon-Test QHI Messstellen Gruppe 2				
	T0	T1	2	T3	T3	T0	T1	T2	T3	T3
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T-1	T0	T0	T0	T-1	T-1	T0	T0	T0	T-1
p	0,018	0,018	0,018	0,018	0,043	0,017	0,017	0,017	0,017	1,00
Wilcoxon-Test QHI Gruppe 3						Wilcoxon-Test QHI Messstellen Gruppe 3				
	T0	T1	2	T3	T3	T0	T1	T2	T3	T3
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T-1	T0	T0	T0	T-1	T-1	T0	T0	T0	T-1
p	0,018	0,018	0,018	0,018	0,028	0,017	0,018	0,018	0,018	0,102

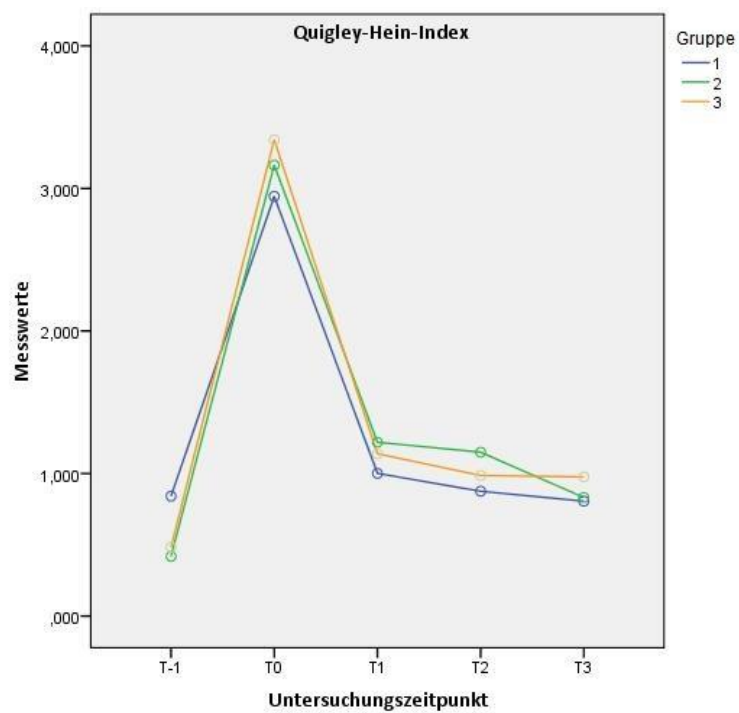


Abbildung 2: Ergebnisse Quigley-Hein-Index gesamte Mundhöhle

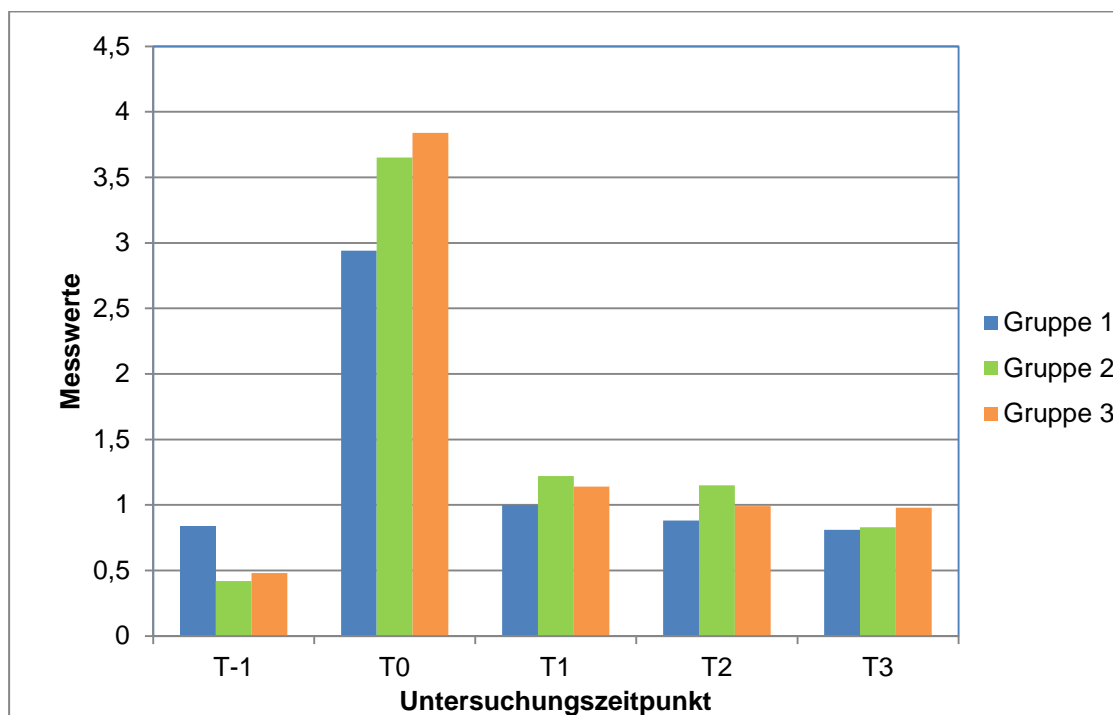


Abbildung 3: Ergebnisse Quigley-Hein-Index gesamte Mundhöhle (Balkendiagramm)

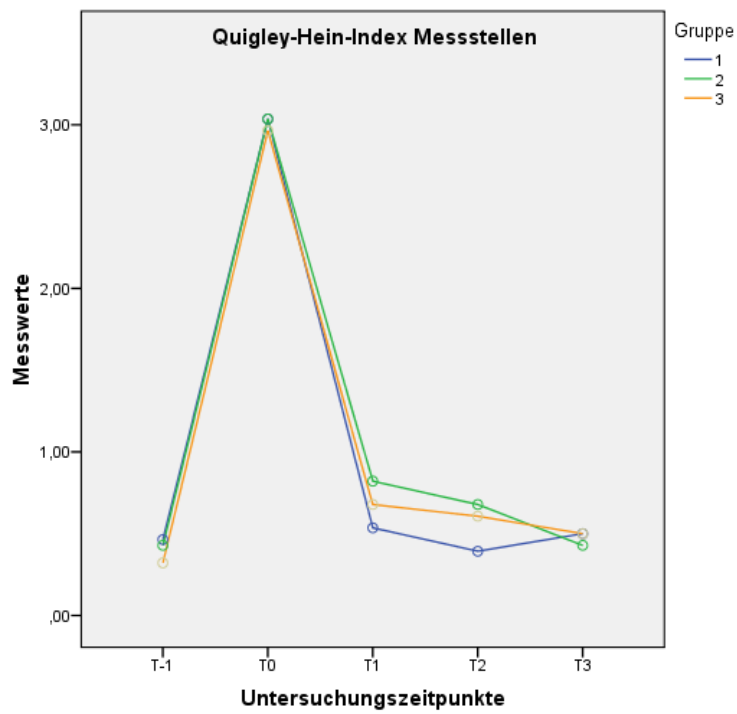


Abbildung 4: Ergebnisse Quigley-Hein-Index an Entnahmestellen gepoolt

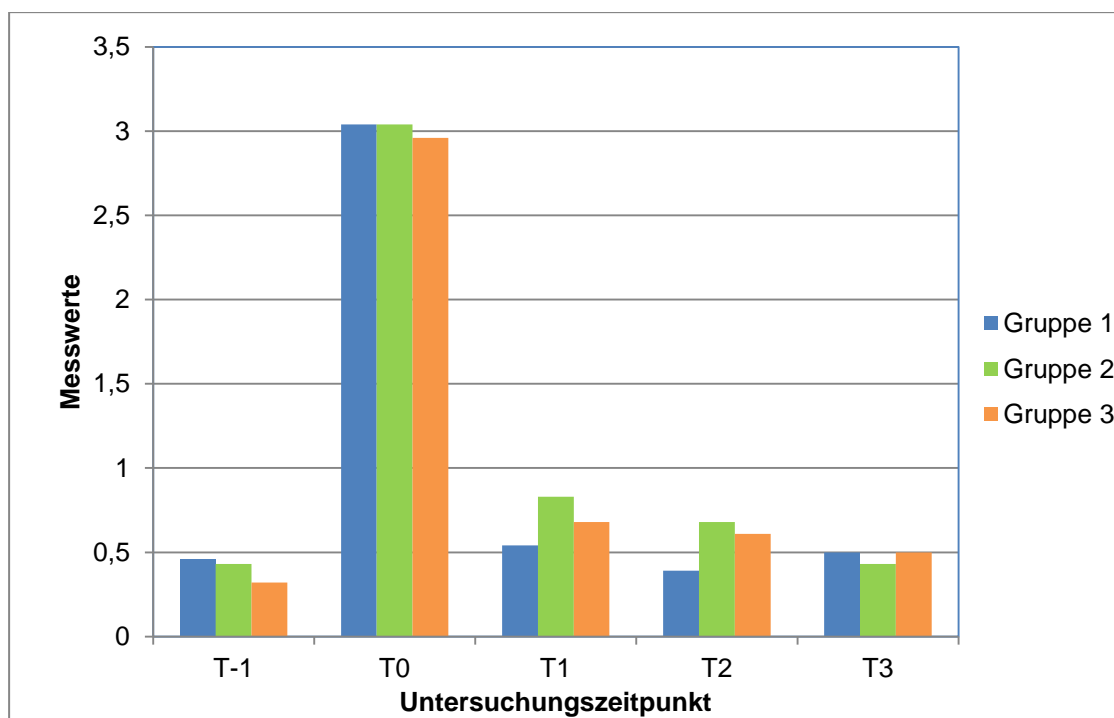


Abbildung 5: Ergebnisse Quigley-Hein-Index an Entnahmestellen gepoolt (Balkendiagramm)

5.3.2 Gingivalindex nach Lobene

Wie in Tabelle 13 und Abbildung 6 sowie 7 abgebildet, lagen die Werte für den Gingivalindex nach Lobene bei $\bar{x} = 0,07$ in der Gruppe 1, $\bar{x} = 0,05$ in der Gruppe 2 und $\bar{x} = 0,12$ in der Gruppe 3. Nach Verzicht auf die Mundhygiene kam es zu einem Anstieg der Messwerte auf einen Höchstwert von $\bar{x} = 2,11$ in Gruppe 1. Nach Wiedereinsetzen der Plaquekontrolle sanken die Werte und erreichten zum Zeitpunkt T3 die Werte $\bar{x} = 0,11$ in der Gruppe 1, $\bar{x} = 0,11$ in der Gruppe 2 und $\bar{x} = 0,12$ in Gruppe 3. In Tabelle 13 sind die Werte des Gingivalindex nach Lobene für die Messstellen aufgeführt und in der Abbildung 8 als auch 9 graphisch dargestellt. Zum Zeitpunkt T-1 lagen diese für die Gruppen 1 und 2 bei $\bar{x} = 0,00$ und für Gruppe 3 bei $\bar{x} = 0,04$. Nach Verzicht auf Mundhygiene stiegen die Werte der Gruppe 1 auf $\bar{x} = 2,04$, der Gruppe 2 auf $\bar{x} = 1,68$ und der Gruppe 3 auf $\bar{x} = 1,89$. Nach Einsetzen der Mundhygiene sanken die Werte und alle drei Gruppen erreichten zur Untersuchung T3 ihren Tiefstwert von $\bar{x} = 0,00$.

In den Tabellen 14 – 16 sind die Ergebnisse der statistischen Datenanalyse des Gingivalindex nach Lobene dargestellt. Der Mann-Whitney-U-Test der Gruppen 2 und 3 ermittelt zum Zeitpunkt T2 eine Tendenz zur Signifikanz ($p = 0,064$). Der Friedman-Test ergab für alle drei Studiengruppen eine Signifikanz von jeweils $p = 0,00$. Beim Wilcoxon-Test der Gruppe 1 wurde beim Vergleich der Zeitpunkte T0 zu T-1 ($p = 0,018$), T1 zu T0 ($p = 0,018$), T2 zu T0 ($p = 0,018$) T3 zu T0 ($p = 0,018$) und T3 zu T-1 ($p = 0,027$) signifikante Ergebnisse berechnet. Der Wilcoxon-Test der Gruppe 2 ergab bei den Vergleichen der Zeitpunkte T0 zu T-1 ($p = 0,018$), T1 zu T0 ($p = 0,018$), T2 zu T0 ($p = 0,018$) und T3 zu T0 ($p = 0,018$) ebenfalls eine Signifikanz. Auch für Gruppe 3 wurden beim Vergleich der Zeitpunkte T0 zu T-1 ($p = 0,018$), T1 zu T0 ($p = 0,018$), T2 zu T0 ($p = 0,018$) und T3 zu T0 ($p = 0,018$) im Wilcoxon-Test signifikante Werte ermittelt.

In den Tabellen 14 - 16 sind die Ergebnisse der statistischen Datenanalyse des Gingivalindex nach Lobene an den Messstellen dargestellt. Der Friedman-Test war bei allen drei Untersuchungsgruppen signifikant mit $p = 0,004$ für Gruppe 1, $p = 0,001$ für Gruppe 2 und $p = 0,001$ für Gruppe 3. Der Wilcoxon-Test bestätigt diese Ergebnisse für alle drei Gruppen. So waren in der Gruppe 1 die Vergleiche der Zeitpunkte T0 zu T-1 ($p = 0,018$), T1 zu T0 ($p = 0,018$), T2 zu T0 ($p = 0,017$) und T3 zu T0 ($p = 0,018$) ebenso wie in Gruppe 2 mit T0 zu T-1 ($p = 0,017$), T1 zu T0 ($p = 0,017$), T 2 zu T0 ($p = 0,017$) und T3 zu T0 ($p = 0,017$) und Gruppe 3 im Wilcoxon-Test mit T0 zu T-1 ($p = 0,018$), T1 zu T0 ($p = 0,017$), T2 zu T0 ($p = 0,018$) und T3 zu T0 ($p = 0,018$) signifikant.

Tabelle 13: Gingivalindex nach Lobene zu den Zeitpunkten T-1 bis T3

Index	T-1			T0			T1			T2			T3		
	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ
GI															
Gr. 1	0,07	0,05	0,05	2,11	0,50	2,07	1,09	0,63	1,33	0,43	0,42	0,20	0,11	0,05	0,09
Gr. 2	0,05	0,05	0,06	1,91	0,43	1,98	0,82	0,62	1,05	0,18	0,13	0,12	0,11	0,05	0,09
Gr. 3	0,12	0,20	0,05	2,02	0,38	2,11	0,72	0,41	0,69	0,37	0,21	0,27	0,12	0,07	0,11
GI-Mess															
Gr. 1	0,00	0,00	0,00	2,04	0,67	2,00	0,93	0,76	1,25	0,25	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00
Gr. 2	0,00	0,00	0,00	1,68	0,62	1,25	0,64	0,56	0,75	0,14	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00
Gr. 3	0,04	0,09	0,00	1,89	0,63	2,00	0,46	0,47	0,25	0,11	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabelle 14: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test Gingivalindex nach Lobene

Kruskal-Wallis Test GI						Kruskal-Wallis Test GI Messstellen				
	T-1	T0	T1	T2	T3	T-1	T0	T1	T2	T3
p	0,871	0,534	0,447	0,122	0,956	0,368	0,710	0,384	0,744	1,00
Mediantest GI						Mediantest GI Messstellen				
	T-1	T0	T1	T2	T3	T-1	T0	T1	T2	T3
p	0,826	0,174	0,466	0,263	0,558	0,350	0,807	0,243	0,497	1,00
Mann-Whitney-U-Test GI Gruppe 1 und 2						Mann-Whitney-U-Test GI Messstellen Gruppe 1 und 2				
	T-1	T0	T1	T2	T3	T-1	T0	T1	T2	T3
p	0,797	0,277	0,338	0,124	0,898	0,797	0,277	0,338	0,124	0,898
Mann-Whitney-U-Test GI Gruppe 1 und 3						Mann-Whitney-U-Test GI Messstellen Gruppe 1 und 3				
	T-1	T0	T1	T2	T3	T-1	T0	T1	T2	T3
p	0,522	0,949	0,277	0,522	0,898	0,317	0,795	0,215	0,455	1,00
Mann-Whitney-U-Test GI Gruppe 2 und 3						Mann-Whitney-U-Test GI Messstellen Gruppe 2 und 3				
	T-1	T0	T1	T2	T3	T-1	T0	T1	T2	T3
p	0,898	0,406	0,565	0,064	0,700	0,317	0,554	0,556	0,653	1,00

Tabelle 15: T-Test der der Messwertdifferenzen Gingivalindex nach Lobene

T-Test der Messwertdifferenzen GI Gruppe 1 und 2				T-Test der Messwertdifferenzen GI Messstellen Gruppe 1 und 2		
	ΔGI T1/T0	ΔGI T2/T0	ΔGI T3/T0	ΔGI_{mess} T1/T0	ΔGI_{mess} T2/T0	ΔGI_{mess} T3/T0
p	0,765	0,788	0,398	0,292	1,000	0,687
T-Test der Messwertdifferenzen GI Gruppe 1 und 3				T-Test der Messwertdifferenzen GI Messstellen Gruppe 1 und 3		
	ΔGI T1/T0	ΔGI T2/T0	ΔGI T3/T0	ΔGI_{mess} T1/T0	ΔGI_{mess} T2/T0	ΔGI_{mess} T3/T0
p	0,165	0,845	0,672	0,765	0,392	0,322
T-Test der Messwertdifferenzen GI Gruppe 2 und 3				T-Test der Messwertdifferenzen GI Messstellen Gruppe 2 und 3		
	ΔGI T1/T0	ΔGI T2/T0	ΔGI T3/T0	ΔGI_{mess} T1/T0	ΔGI_{mess} T2/T0	ΔGI_{mess} T3/T0
p	0,247	0,702	0,651	0,177	0,440	0,534

Tabelle 16: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Gingivalindex nach Lobene

Friedman-Test GI						Friedman-Test GI Messstellen							
		Gruppe 1		Gruppe 2		Gruppe 3		Gruppe 1		Gruppe 2		Gruppe 3	
p		0,00		0,00		0,00		0,004		0,001		0,001	
Wilcoxon-Test GI Gruppe 1						Wilcoxon-Test GI Messstellen Gruppe 1							
		T0	T1	T2	T3	T3	T0	T1	T2	T3	T3		
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		T-1	T0	T0	T0	T-1	T-1	T0	T0	T0	T0	T-1	
p		0,018	0,018	0,018	0,018	0,027	0,018	0,018	0,017	0,018		1,00	
Wilcoxon-Test GI Gruppe 2						Wilcoxon-Test GI Messstellen Gruppe 2							
		T0	T1	T2	T3	T3	T0	T1	T2	T3	T3		
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		T-1	T0	T0	T0	T-1	T-1	T0	T0	T0	T0	T-1	
p		0,018	0,018	0,018	0,018	0,063	0,017	0,017	0,017	0,017		1,00	
Wilcoxon-Test GI Gruppe 3						Wilcoxon-Test GI Messstellen Gruppe 3							
		T0	T1	T2	T3	T3	T0	T1	T2	T3	T3		
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		T-1	T0	T0	T0	T-1	T-1	T0	T0	T0	T0	T-1	
p		0,018	0,018	0,018	0,018	0,237	0,018	0,017	0,018	0,018		0,317	

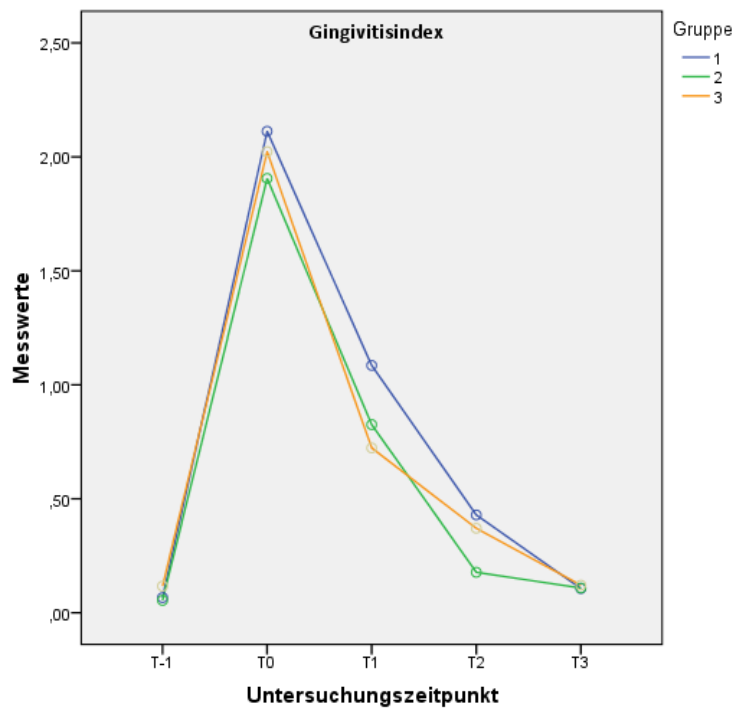


Abbildung 6: Ergebnisse Gingivalindex nach Lobene gesamte Mundhöhle

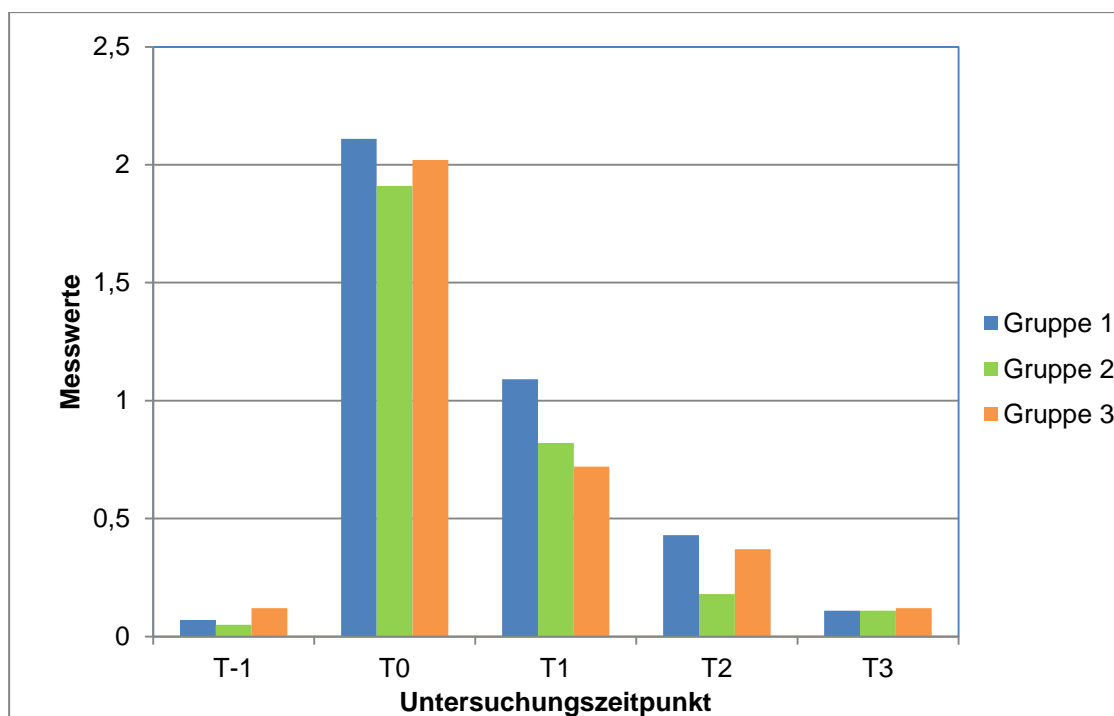


Abbildung 7: Ergebnisse Gingivalindex nach Lobene gesamte Mundhöhle (Balkendiagramm)

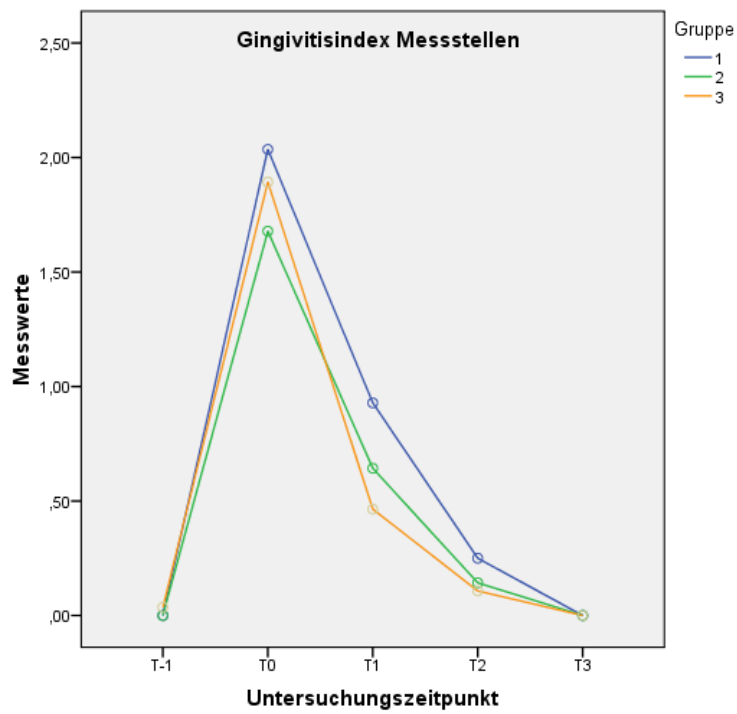


Abbildung 8: Ergebnisse Gingivalindex nach Lobene Entnahmestellen gepoolt

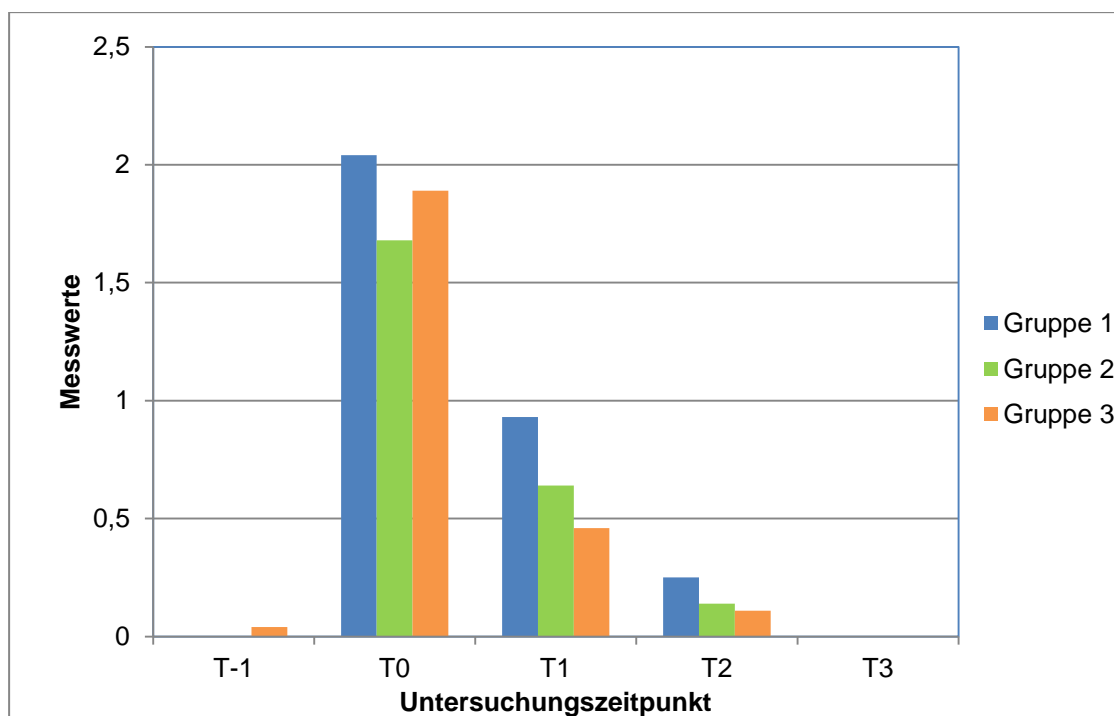


Abbildung 9: Ergebnisse Gingivalindex nach Lobene Entnahmestellen gepoolt Balkendiagramm

5.3.3 Sulkusflüssigkeitsfließrate

Sulkusflüssigkeitsfließrate am Zahn 15

Tabelle 17, Abbildung 10 und 11 ist zu entnehmen, dass zu Beginn der Untersuchung T0 der Mittelwert der Sulkusflüssigkeitsfließrate am Zahn 15 in der Gruppe 1 $\bar{x} = 36,14$, in der Gruppe 2 $\bar{x} = 30$ und in der Gruppe 3 $\bar{x} = 37,29$ betrug. Im Verlauf der Studie sank der Wert in den Gruppen 1 und 2 bis zum Zeitpunkt T1 auf $\bar{x} = 25,71$ und $\bar{x} = 28,14$. Zum selben Zeitpunkt war die Sulkusflüssigkeitsfließrate in Gruppe 3 mit $\bar{x} = 50,86$ deutlich erhöht. Bei allen drei Gruppen sank dieser Wert zum Zeitpunkt T2 auf $\bar{x} = 17,29$ in Gruppe 1, auf $\bar{x} = 23,43$ in Gruppe 2 und auf $\bar{x} = 30,86$ in Gruppe 3. Zur Abschlussuntersuchung T3 sanken die Werte in der Gruppe 1 $\bar{x} = 9,57$, in Gruppe 2 $\bar{x} = 14,00$ und in Gruppe 3 $\bar{x} = 22,57$ deutlich unter die ermittelte Rate zum Zeitpunkt T0.

In den Tabellen 18 – 20 sind die Ergebnisse der statistischen Datenanalyse von Zahn 15 dargestellt. Wie in der Tabelle 18 zu sehen ist, waren die Ergebnisse des Vergleiches der Gruppen 1 und 3 im Mann-Whitney-U-Test zu den Zeitpunkten T1 ($p = 0,096$), T2 ($p = 0,064$) und T3 ($p = 0,055$) tendenziell signifikant. In der Tabelle 20 sind der Friedman- und Wilcoxon-Test dargestellt. Der Friedman-Test der Gruppe 1 ($p = 0,034$) und Gruppe 2 ($p = 0,011$) war signifikant. Im Wilcoxon-Test der Gruppe 1 war der Vergleich der Zeitpunkte T2 zu T0 ($p = 0,043$) und T3 zu T0 ($p = 0,018$) signifikant. Der Vergleich der Zeitpunkte T3 zu T0 im Wilcoxon-Test war ebenfalls bei der Gruppe 2 signifikant ($p = 0,018$). Bei der Gruppe 3 war der Vergleich von T3 zu T0 im Wilcoxon-Test tendenziell signifikant ($p = 0,063$).

Tabelle 17: Sulkusflüssigkeitsfließrate am Zahn 15

Index	T0			T1			T2			T3		
	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ
Gr. 1	36,14	26,54	22,00	25,71	14,83	19,00	17,29	11,27	12,00	9,57	7,83	7,00
Gr. 2	30,00	14,84	23,00	28,14	13,74	26,00	23,43	7,64	19,00	14,00	6,40	14,00
Gr. 3	37,29	17,92	36,00	50,86	28,82	48,00	30,86	15,97	29,00	22,57	13,32	21,00

**Tabelle 18: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test
Sulkusflüssigkeitsfließrate 15**

Kruskal-Wallis Test SFFR 15				
	T0	T1	T2	T3
p	0,933	0,181	0,209	0,124

Mediantest SFFR 15				
	T0	T1	T2	T3
p	0,263	0,263	0,826	0,263
Mann-Whitney-U-Test SFFR 15 Gruppe 1 und 2				
	T0	T1	T2	T3
p	0,949	0,482	0,405	0,368
Mann-Whitney-U-Test SFFR 15 Gruppe 1 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,798	0,096	0,064	0,055
Mann-Whitney-U-Test SFFR 15 Gruppe 2 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,701	0,180	0,481	0,200

Tabelle 19: T-Test der Messwertdifferenzen Sulkusflüssigkeitsfließrate 15

T-Test der Messwertdifferenzen SFFR 15 Gruppe 1 und 2			
	ΔSFFR15 T1/T0	ΔSFFR15 T2/T0	ΔSFFR15 T3/T0
p	0,629	0,250	0,337
T-Test der Messwertdifferenzen SFFR 15 Gruppe 1 und 3			
	ΔSFFR15 T1/T0	ΔSFFR15 T2/T0	ΔSFFR15 T3/T0
p	0,272	0,317	0,270
T-Test der Messwertdifferenzen SFFR 15 Gruppe 2 und 3			
	ΔSFFR15 T1/T0	ΔSFFR15 T2/T0	ΔSFFR15 T3/T0
p	0,413	0,990	0,886

Tabelle 20: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Sulkusflüssigkeitsfließrate

Friedman-Test SFFR 15			
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
p	0,034	0,011	0,510
Wilcoxon-Test SFFR 15 Gruppe 1			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,735	0,043	0,018
Wilcoxon-Test SFFR 15 Gruppe 2			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,735	0,352	0,018
Wilcoxon-Test SFFR 15 Gruppe 3			

	T1 - T0	T2 - T0	T3 - T0
p	0,499	0,397	0,063

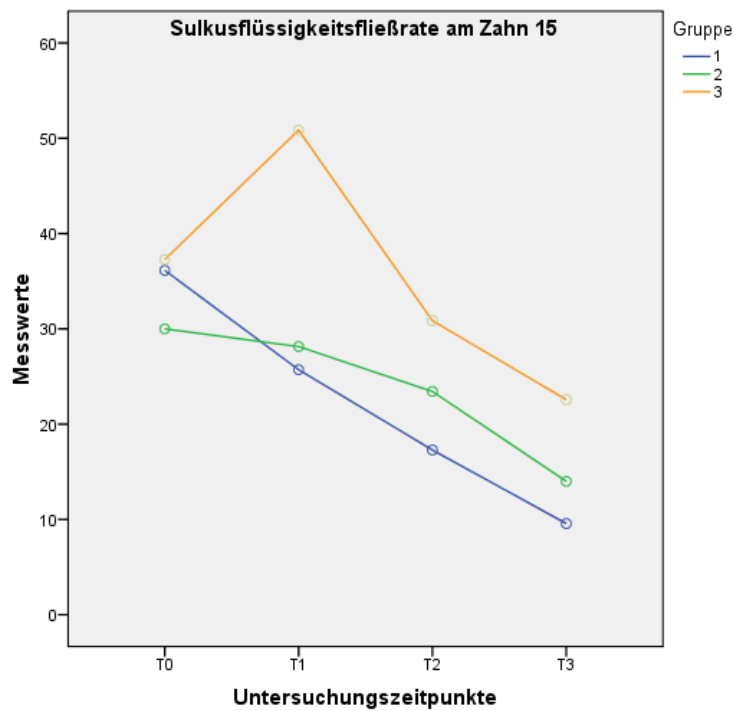


Abbildung 10: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 15

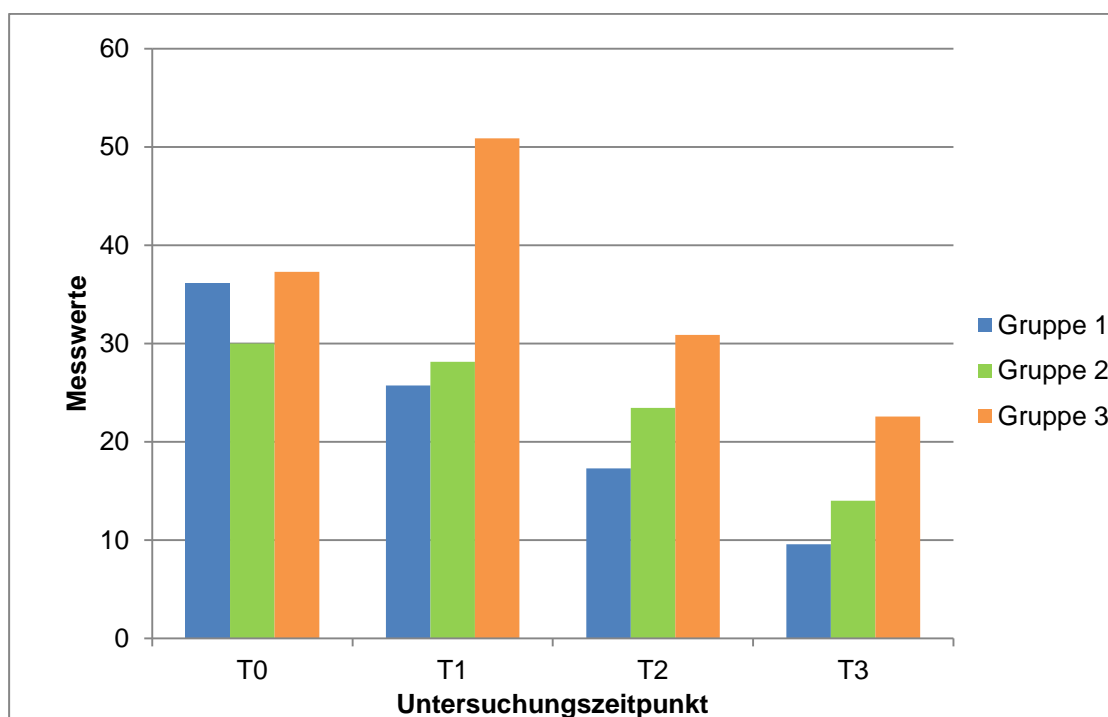


Abbildung 11: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 15 (Balkendiagramm)

Sulkusflüssigkeitsfließrate am Zahn 25

Tabelle 21, Abbildung 12 und 13 ist zu entnehmen, dass am Zahn 25 die Messwerte der Sulkusflüssigkeitsfließrate $\dot{x} = 35,43$ in der Gruppe 1, $\dot{x} = 29,43$ in der Gruppe 2 und $\dot{x} = 32,86$ in der Gruppe 3 zu T0 betrugen. Zum Zeitpunkt T1 ergaben sich folgende Messwerte: Gruppe 1 $\dot{x} = 34,57$, Gruppe 2 $\dot{x} = 22,14$ und Gruppe 3 $\dot{x} = 30,57$. Zum Zeitpunkt T2 wurden folgende Messwerte ermittelt: Gruppe 1 $\dot{x} = 18,86$, Gruppe 2 $\dot{x} = 31,57$ und Gruppe 3 $\dot{x} = 17,29$. Zur Abschlussuntersuchung T3 sanken die Werte in der Gruppe 1 auf $\dot{x} = 11,86$, in Gruppe 2 auf $\dot{x} = 11,57$ und in Gruppe 3 auf $\dot{x} = 13,86$.

In den Tabellen 22 - 24 sind die Ergebnisse der statistischen Datenanalyse der Sulkusflüssigkeitsfließrate von Zahn 25 dargestellt. Die Daten in Tabelle 24 belegen, dass der Friedman-Test bei der Gruppe 1 mit $p = 0,013$ eine signifikant erhöhte Sulkusflüssigkeitsfließrate ergab. Tabelle 24 verdeutlicht die Signifikanz im Wilcoxon-Test für die Vergleiche der Untersuchungszeitpunkte T2 zu T0 ($p = 0,027$) und T3 zu T0 ($p = 0,018$) für Gruppe 1 und für Gruppe 2 T3 zu T0 ($p = 0,028$) signifikant. Bei der Gruppe 3 ergaben die Vergleiche von T2 zu T0 ($p = 0,075$) und T3 zu T0 ($p = 0,063$) tendenziell signifikante Ergebnisse.

Tabelle 21: Sulkusflüssigkeitsfließrate an Zahn 25

Index	T0			T1			T2			T3		
	\dot{x}	s	χ	\dot{x}	s	χ	\dot{x}	s	χ	\dot{x}	s	χ
Gr. 1	35,43	16,48	30,00	34,57	34,80	16,00	18,86	8,44	18,00	11,86	5,70	15,00
Gr. 2	29,43	14,51	28,00	22,14	10,25	26,00	31,57	28,05	27,00	11,57	2,37	22,00
Gr. 3	32,86	23,91	21,00	30,57	20,63	26,00	17,29	17,51	12,00	13,86	9,16	16,00

**Tabelle 22: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test
Sulkusflüssigkeitsfließrate 25**

Kruskal-Wallis Test SFFR 25				
	T0	T1	T2	T3
p	0,646	0,833	0,243	0,996
Mediantest SFFR 25				
	T0	T1	T2	T3
p	0,558	1,00	0,466	1,00
Mann-Whitney-U-Test SFFR 25 Gruppe 1 und 2				
	T0	T1	T2	T3
p	0,370	0,701	0,371	0,748

Mann-Whitney-U-Test SFFR 25 Gruppe 1 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,481	0,798	0,306	0,847
Mann-Whitney-U-Test SFFR 25 Gruppe 2 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,949	0,520	0,125	0,847

Tabelle 23: T-Test der Messwertdifferenzen Sulkusflüssigkeitsfließrate 25

T-Test der Messwertdifferenzen SFFR 25 Gruppe 1 und 2			
	ΔSFFR25 T1/T0	ΔSFFR25 T2/T0	ΔSFFR25 T3/T0
p	0,934	0,939	0,700
T-Test der Messwertdifferenzen SFFR 25 Gruppe 1 und 3			
	ΔSFFR25 T1/T0	ΔSFFR25 T2/T0	ΔSFFR25 T3/T0
p	0,684	0,250	0,490
T-Test der Messwertdifferenzen SFFR 25 Gruppe 2 und 3			
	ΔSFFR25 T1/T0	ΔSFFR25 T2/T0	ΔSFFR25 T3/T0
p	0,678	0,204	0,924

Tabelle 24: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Sulkusflüssigkeitsfließrate 25

Friedman-Test SFFR 25			
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
p	0,013	0,114	0,208
Wilcoxon-Test SFFR 25 Gruppe 1			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,352	0,027	0,018
Wilcoxon-Test SFFR 25 Gruppe 2			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,310	0,735	0,028
Wilcoxon-Test SFFR 25 Gruppe 3			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,866	0,075	0,063

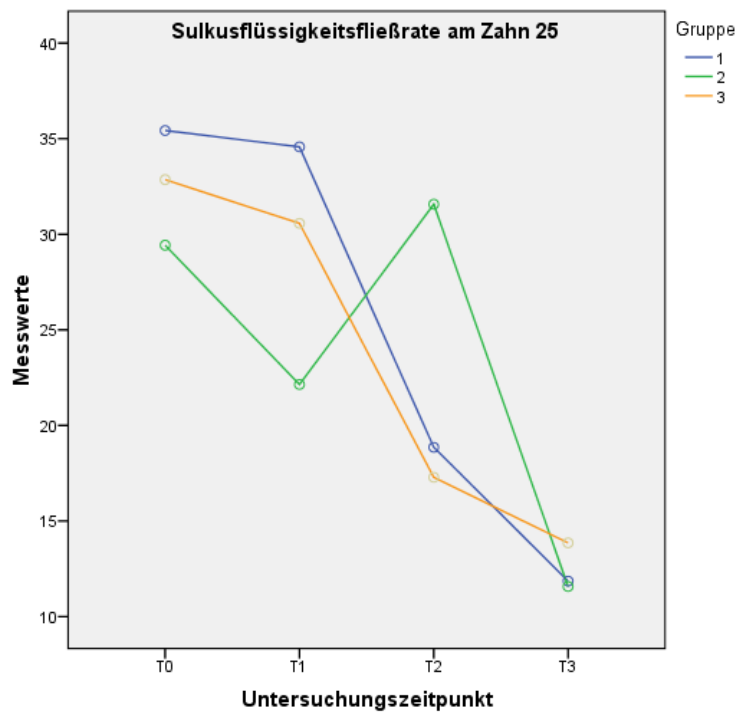


Abbildung 12: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 25

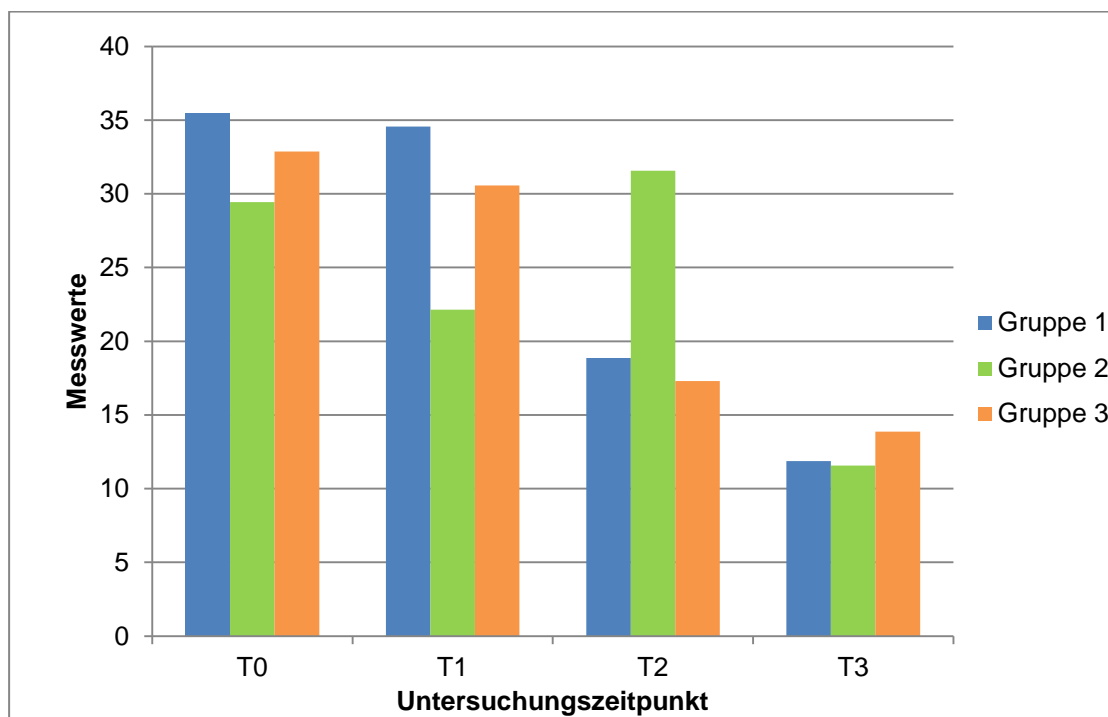


Abbildung 13: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 25 (Balkendiagramm)

Sulkusflüssigkeitsfließrate am Zahn 35

Zu Beginn der Untersuchung (T0) wurde am Zahn 35 folgende Sulkusflüssigkeitsfließrate ermittelt $\dot{x} = 40,57$ in der Gruppe 1, $\dot{x} = 56,71$ in Gruppe 2 und $\dot{x} = 43,43$ in der Gruppe 3 (Tabelle 25, Abbildung 14 und 15). Zum Zeitpunkt T1 betrug sie $\dot{x} = 41,43$ in der Gruppe 1, $\dot{x} = 45,57$ in der Gruppe 2 und $\dot{x} = 60,86$ in der Gruppe 3. Bei der Abschlussuntersuchung T3 wurden $\dot{x} = 18,57$ für die Gruppe 1, $\dot{x} = 23,29$ für Gruppe 2 und $\dot{x} = 16,86$ für Gruppe 3 ermittelt.

Die Ergebnisse der statistischen Datenanalyse der Sulkusflüssigkeitsfließrate am Zahn 35 sind in den Tabellen 26 – 28 aufgeführt. Der Friedman-Test ergab für Gruppe 2 ($p = 0,051$) eine tendenzielle und für Gruppe 1 ($p = 0,021$) und Gruppe 3 ($p = 0,004$) eine deutliche Signifikanz (Tabelle 28). Im Wilcoxon-Test wurden im Vergleich der Zeitpunkte T3 zu T0 signifikant veränderte Werte festgestellt (Gruppe 1 $p = 0,018$, Gruppe 2 $p = 0,042$, Gruppe 3 $p = 0,018$).

Tabelle 25: Sulkusflüssigkeitsfließrate 35

Index	T0			T1			T2			T3		
	\dot{x}	s	χ	\dot{x}	s	χ	\dot{x}	s	χ	\dot{x}	s	χ
Gr. 1	40,57	26,18	31,00	41,43	28,08	37,00	26,86	13,06	29,00	18,57	16,36	15,00
Gr. 2	56,71	31,07	50,00	45,57	24,81	32,00	42,00	25,87	29,00	23,29	13,51	22,00
Gr. 3	43,43	26,25	35,00	60,86	44,33	59,00	30,71	26,64	19,00	16,86	10,19	16,00

Tabelle 26: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test

Sulkusflüssigkeitsfließrate 35

Kruskal-Wallis Test SFFR 35				
	T0	T1	T2	T3
p	0,431	0,844	0,598	0,601
Mediantest SFFR 35				
	T0	T1	T2	T3
p	0,263	0,826	1,00	0,263
Mann-Whitney-U-Test SFFR 35 Gruppe 1 und 2				
	T0	T1	T2	T3
p	0,338	0,898	0,443	0,338
Mann-Whitney-U-Test SFFR 35 Gruppe 1 und 3				
	T0	T1	T2	T3

p	0,482	0,482	0,949	1,00
Mann-Whitney-U-Test SFFR 35 Gruppe 2 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,350	0,848	0,337	0,443

Tabelle 27: T-Test der Messwertdifferenzen Sulkusflüssigkeitsfließrate 35

T-Test der Messwertdifferenzen SFFR 35 Gruppe 1 und 2			
	ΔSFFR35 T1/T0	ΔSFFR35 T2/T0	ΔSFFR35 T3/T0
p	0,457	0,955	0,717
T-Test der Messwertdifferenzen SFFR 35 Gruppe 1 und 3			
	ΔSFFR35 T1/T0	ΔSFFR35 T2/T0	ΔSFFR35 T3/T0
p	0,528	0,961	0,551
T-Test der Messwertdifferenzen SFFR 35 Gruppe 2 und 3			
	ΔSFFR35 T1/T0	ΔSFFR35 T2/T0	ΔSFFR35 T3/T0
p	0,278	0,927	0,704

Tabelle 28: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Sulkusflüssigkeitsfließrate 35

Friedman-Test SFFR 35			
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
p	0,021	0,051	0,004
Wilcoxon-Test SFFR 35 Gruppe 1			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,917	0,310	0,018
Wilcoxon-Test SFFR 35 Gruppe 2			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,612	0,612	0,042
Wilcoxon-Test SFFR 35 Gruppe 3			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,612	0,237	0,018

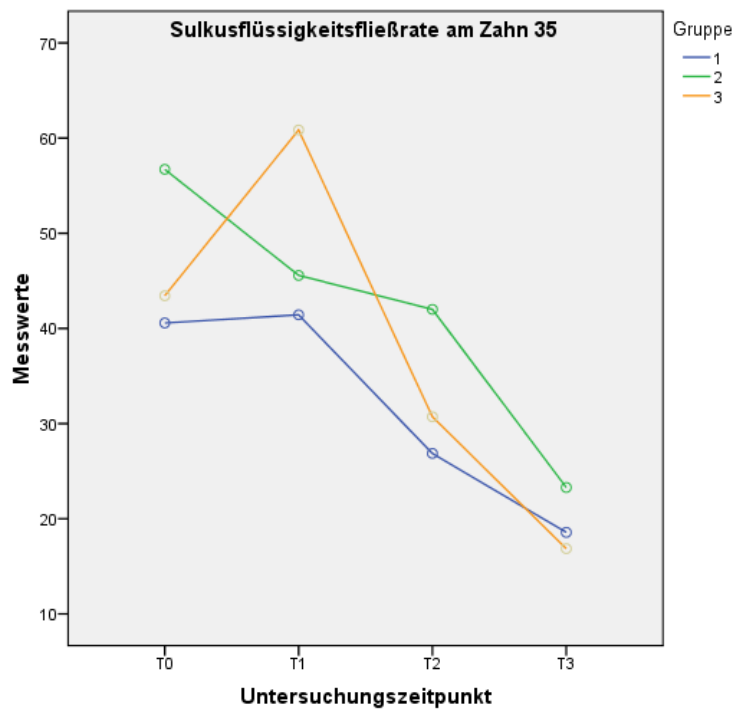


Abbildung 14: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 35

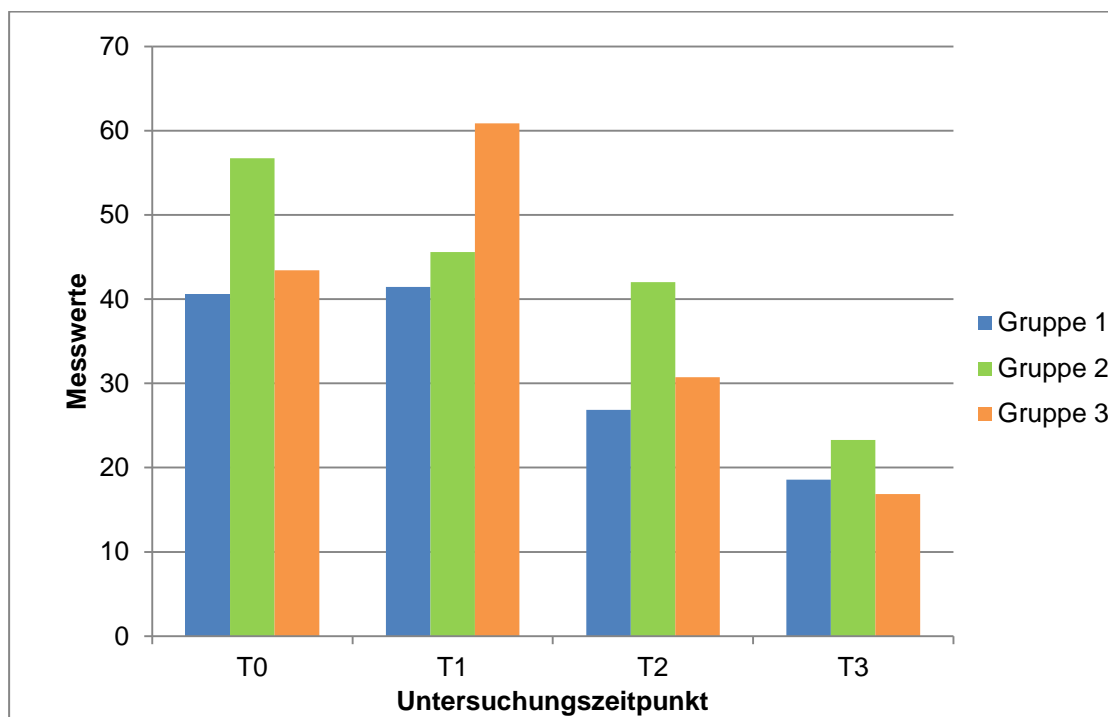


Abbildung 15: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 35 (Balkendiagramm)

Sulkusflüssigkeitsfließrate am Zahn 45

Wie in Tabelle 29 und Abbildung 16 sowie 17 zusammengefasst, betrug die Sulkusflüssigkeitsfließrate am Zahn 45 zum Zeitpunkt T0 $\bar{x} = 37,71$ in der Gruppe 1, $\bar{x} = 37,86$ in der Gruppe 2, bei $\bar{x} = 42,14$ in der Gruppe 3. Zum Zeitpunkt T1 wurden, mit Ausnahme der Gruppe 2, leicht erhöhte Werte ermittelt: Gruppe 1 $\bar{x} = 34,29$, Gruppe 2 $\bar{x} = 33,71$ und Gruppe 3 $\bar{x} = 47,71$. Zum Zeitpunkt T2 war die Sulkusflüssigkeitsfließrate in allen Gruppen mit $\bar{x} = 25,57$ in der Gruppe 1, $\bar{x} = 19,14$ in Gruppe 2 und $\bar{x} = 37,43$ in der Gruppe 3 deutlich reduziert. Zum Zeitpunkt T3 sanken die Werte auf $\bar{x} = 14,43$ in der Gruppe 1, auf $\bar{x} = 12,57$ in der Gruppe 2 und auf $\bar{x} = 21,86$ in der Gruppe 3.

In den Tabellen 30 – 32 sind die Ergebnisse der statistischen Datenanalyse aufgeführt. Der Friedman-Test bestätigt eine deutliche Signifikanz für Gruppe 2 mit ($p = 0,037$) (Tabelle 32). Der Vergleich der Untersuchungszeitpunkte T3 zu T0 im Wilcoxon-Test war sowohl bei Gruppe 1 ($p = 0,034$), Gruppe 2 ($p = 0,018$) als auch Gruppe 3 ($p = 0,028$) signifikant.

Tabelle 29: Sulkusflüssigkeitsfließrate an 45

Index	T0			T1			T2			T3		
	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ
Gr. 1	37,71	17,14	40,00	34,29	18,31	33,00	25,57	14,59	26,00	14,43	5,29	16,00
Gr. 2	37,86	28,66	29,00	33,71	22,12	34,00	19,14	16,67	13,00	12,57	5,47	11,00
Gr. 3	42,14	24,06	41,00	47,71	55,50	29,00	37,43	40,32	19,00	21,86	16,08	14,00

Tabelle 30: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test

Sulkusflüssigkeitsfließrate 45

Kruskal-Wallis Test SFFR 45				
	T0	T1	T2	T3
p	0,831	0,985	0,490	0,637
Mediantest SFFR 45				
	T0	T1	T2	T3
p	0,826	0,826	0,263	0,466
Mann-Whitney-U-Test SFFR 45 Gruppe 1 und 2				
	T0	T1	T2	T3
p	0,748	0,949	0,276	0,520
Mann-Whitney-U-Test SFFR 45 Gruppe 1 und 3				
	T0	T1	T2	T3

p	0,848	0,848	0,949	0,748
Mann-Whitney-U-Test SFFR 45 Gruppe 2 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,522	0,848	0,337	0,370

Tabelle 31: T-Test der Messwertdifferenzen Sulkusflüssigkeitsfließrate 45

T-Test der Messwertdifferenzen SFFR 45 Gruppe 1 und 2			
	ΔSFFR45 T1/T0	ΔSFFR45 T2/T0	ΔSFFR45 T3/T0
p	0,736	0,719	0,753
T-Test der Messwertdifferenzen SFFR 45 Gruppe 1 und 3			
	ΔSFFR45 T1/T0	ΔSFFR45 T2/T0	ΔSFFR45 T3/T0
p	0,970	0,678	0,866
T-Test der Messwertdifferenzen SFFR 45 Gruppe 2 und 3			
	ΔSFFR45 T1/T0	ΔSFFR45 T2/T0	ΔSFFR45 T3/T0
p	0,741	0,545	0,678

Tabelle 32: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Sulkusflüssigkeitsfließrate 45

Friedman-Test SFFR 45			
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
p	0,116	0,037	0,101
Wilcoxon-Test SFFR 45 Gruppe 1			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,612	0,176	0,034
Wilcoxon-Test SFFR 45 Gruppe 2			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,866	0,176	0,018
Wilcoxon-Test SFFR 45 Gruppe 3			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,499	0,499	0,028

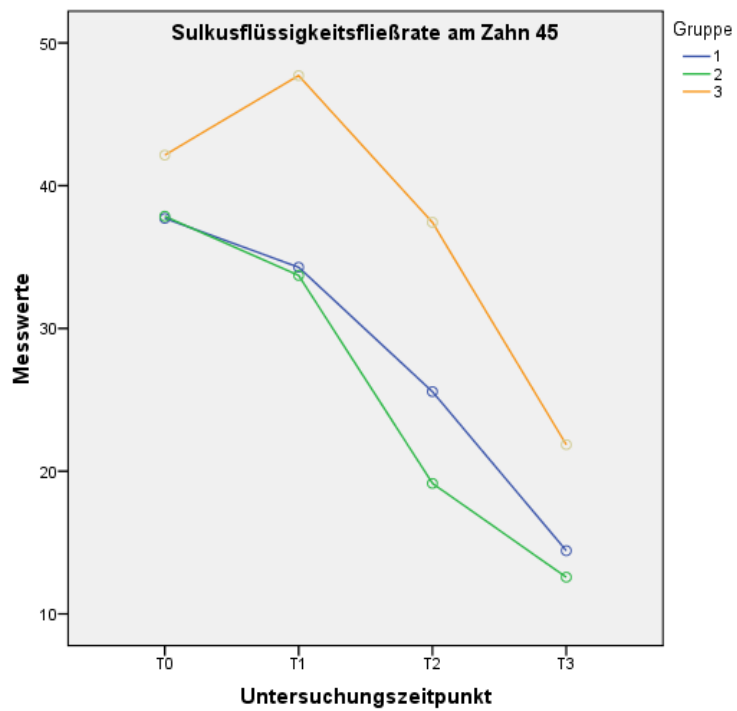


Abbildung 16: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 45

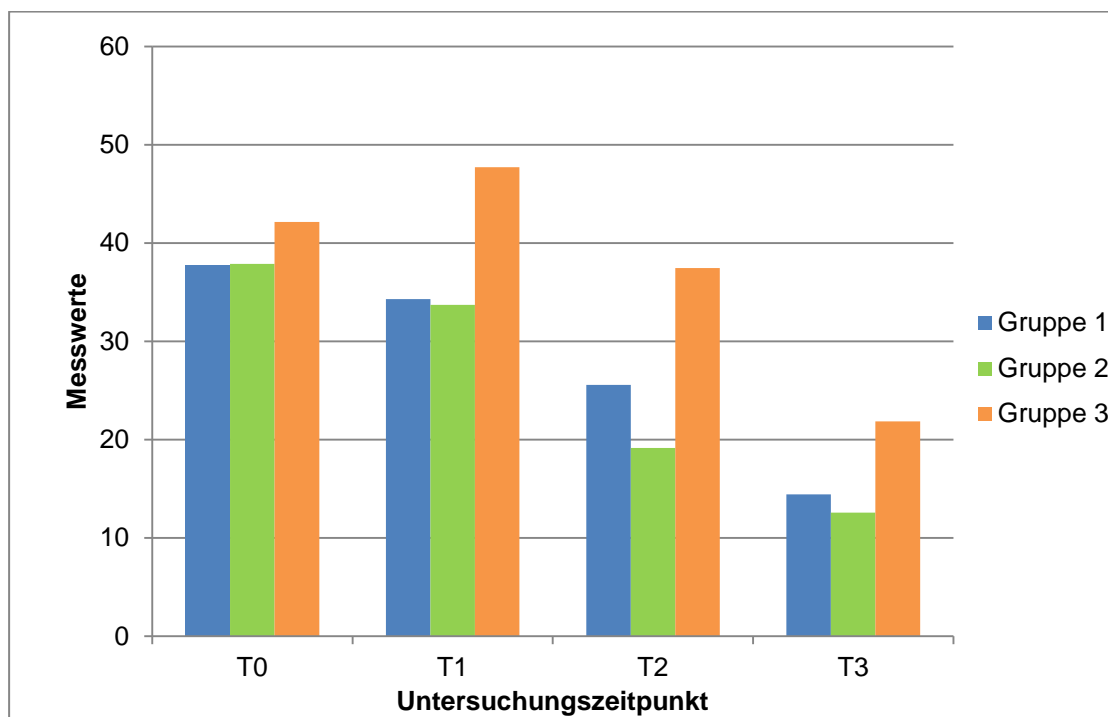


Abbildung 17: Ergebnisse Sulkusflüssigkeitsfließrate 45 (Balkendiagramm)

5.4 Biochemische Untersuchungen

5.4.1 Matrixmetalloproteinase-8

Wie aus Tabelle 33, Abbildung 18 und 19 zu entnehmen ist, betrug die Konzentration von MMP-8 zum Untersuchungszeitpunkt T0 $\bar{x} = 10,77 \cdot 10^3$ ng/ml in der Gruppe 1, $\bar{x} = 7,96 \cdot 10^3$ ng/ml in der Gruppe 2 und $\bar{x} = 5,02 \cdot 10^3$ ng/ml in der Gruppe 3. Zum Zeitpunkt T1 waren Konzentrationen von $\bar{x} = 8,91 \cdot 10^3$ ng/ml in der Gruppe 1, $\bar{x} = 8,49 \cdot 10^3$ ng/ml für Gruppe 2 und $\bar{x} = 5,40 \cdot 10^3$ ng/ml in der Gruppe 3 zu ermitteln. In der Gruppe 1 sanken die Werte auf $\bar{x} = 5,09 \cdot 10^3$ ng/ml zum Zeitpunkt T2 und erreichten ihren Tiefstwert von $\bar{x} = 4,7 \cdot 10^3$ ng/ml zum Zeitpunkt T3. In der Gruppe 2 wurde der Tiefstwert von $\bar{x} = 3,67 \cdot 10^3$ ng/ml zum Zeitpunkt T3 erreicht. In der Gruppe 3 stieg die Konzentration, nachdem sie zum Untersuchungszeitpunkt T2 einen Wert von $\bar{x} = 4,43 \cdot 10^3$ ng/ml erreicht hatte, zur Abschlussuntersuchung auf einen Wert von $\bar{x} = 5,15 \cdot 10^3$ ng/ml an.

Wie in den Tabellen 34 – 36 dargestellt, war der Vergleich der Studiengruppen im Kruskal-Wallis-Test zum Zeitpunkt T0 tendenziell signifikant ($p = 0,059$). Im Wilcoxon-Test der Gruppe 1 war der Vergleich der Untersuchungszeitpunkte T2 zu T0 mit $p = 0,063$ tendenziell signifikant und beim Vergleich von T3 zu T0 mit $p = 0,028$ signifikant. Der Vergleich von T3 zu T0 war bei der Gruppe 2 im Wilcoxon-Test mit Tendenz zur Signifikanz ($p = 0,063$).

Tabelle 33: Matrixmetalloproteinase-8 in ng/ml

Index	T0			T1			T2			T3		
	$\bar{x} \cdot 10^3$	$s \cdot 10^3$	$\chi \cdot 10^3$	$\bar{x} \cdot 10^3$	$s \cdot 10^3$	$\chi \cdot 10^3$	$\bar{x} \cdot 10^3$	$s \cdot 10^3$	$\chi \cdot 10^3$	$\bar{x} \cdot 10^3$	$s \cdot 10^3$	$\chi \cdot 10^3$
Gr. 1	10,77	4,81	10,26	8,91	7,83	7,02	5,09	6,11	3,45	4,79	5,75	2,44
Gr. 2	7,96	3,39	7,11	8,49	7,21	5,13	5,90	6,65	4,53	3,67	3,24	3,51
Gr. 3	5,02	3,43	3,93	5,40	3,02	5,05	4,43	4,94	1,11	5,15	5,15	2,99

**Tabelle 34: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test
Matrixmetalloproteinase-8**

Kruskal-Wallis Test MMP-8				
	T0	T1	T2	T3
p	0,059	0,780	0,865	0,932
Mediantest MMP-8				
	T0	T1	T2	T3

p	0,263	0,826	0,826	0,466
Mann-Whitney-U-Test MMP-8 Gruppe 1 und 2				
	T0	T1	T2	T3
p	0,277	0,848	0,749	0,848
Mann-Whitney-U-Test MMP-8 Gruppe 1 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,025	0,482	0,949	0,949
Mann-Whitney-U-Test MMP-8 Gruppe 2 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,142	0,655	0,565	0,565

Tabelle 35: T-Test der Messwertdifferenzen MMP-8

T-Test der Messwertdifferenzen MMP-8 Gruppe 1 und 2			
	ΔMMP-8 T1/T0	ΔMMP-8 T2/T0	ΔMMP-8 T3/T0
p	0,604	0,352	0,550
T-Test der Messwertdifferenzen MMP-8 Gruppe 1 und 3			
	ΔMMP-8 T1/T0	ΔMMP-8 T2/T0	ΔMMP-8 T3/T0
p	0,520	0,175	0,093
T-Test der Messwertdifferenzen MMP-8 Gruppe 2 und 3			
	ΔMMP-8 T1/T0	ΔMMP-8 T2/T0	ΔMMP-8 T3/T0
p	0,968	0,712	0,194

Tabelle 36: Friedman-Test und Wilcoxon-Test MMP-8

Friedman-Test MMP-8			
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
p	0,116	0,319	0,815
Wilcoxon-Test MMP-8 Gruppe 1			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,735	0,063	0,028
Wilcoxon-Test MMP-8 Gruppe 2			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,735	0,398	0,063
Wilcoxon-Test MMP-8 Gruppe 3			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,499	0,866	0,866

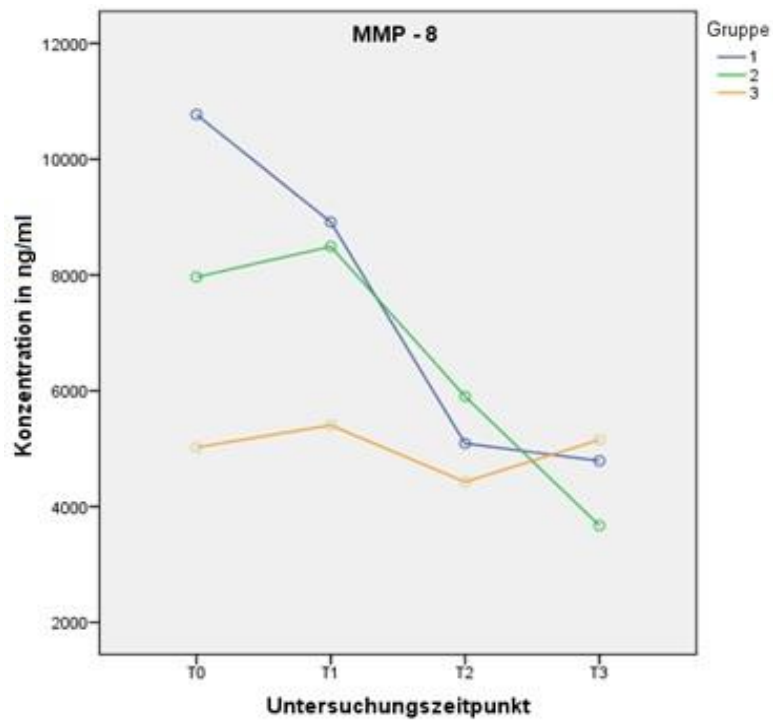


Abbildung 18: Ergebnisse MMP-8

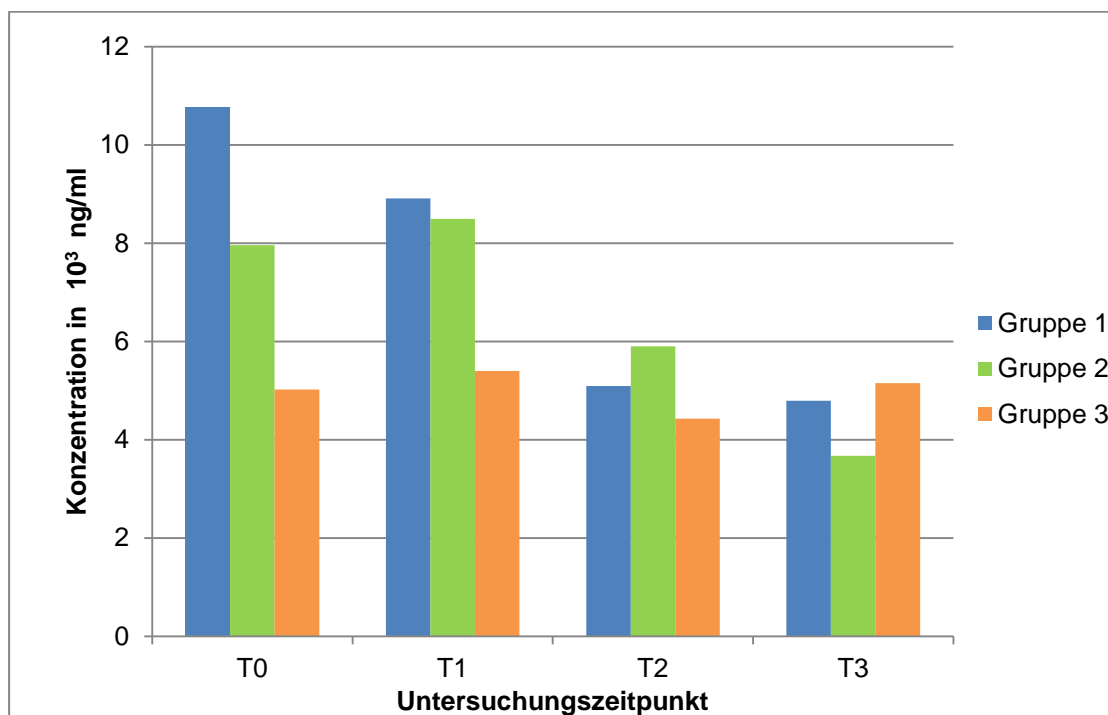


Abbildung 19: Ergebnisse MMP-8 (Balkendiagramm)

5.4.2 Interleukin 1- β

Aus der Tabelle 37, Abbildung 20 sowie 21 wird ersichtlich, dass die Konzentration von IL-1 β bei der Gruppe 1 zum Zeitpunkt T0 bei \bar{x} = 49,15 ng/ml liegt. Im Untersuchungsverlauf sinkt die Konzentration auf einen Tiefstwert von \bar{x} = 10,14 ng/ml zum Zeitpunkt T2. Bis zur Abschlussuntersuchung auf einen Wert von \bar{x} = 10,93 ng/ml ansteigt. Bei der Gruppe 2 lag zum Zeitpunkt T0 eine Konzentration von \bar{x} = 49,28 ng/ml vor. Diese sank auf einen Tiefstwert von \bar{x} = 7,28 ng/ml zum Zeitpunkt T2 und stieg bis zum Untersuchungszeitpunkt T3 auf \bar{x} = 7,48 ng/ml an. Zum Zeitpunkt T0 lag die Konzentration bei der Gruppe 3 bei \bar{x} = 35,07 ng/ml, sank ebenfalls im Studienverlauf und erreichte einen Tiefstwert von \bar{x} = 12,57 ng/ml zum Zeitpunkt T3.

In den Tabellen 38 – 40 sind die Ergebnisse der statistischen Datenanalyse dargestellt. Der Friedman-Test ergab sowohl bei Gruppe 1 (p = 0,005), Gruppe 2 (p = 0,003) als auch bei Gruppe 3 (p = 0,008) eine Signifikanz. Beim Wilcoxon-Test der Gruppe 1 waren die Vergleiche von T1 zu T0 (p = 0,018), T2 zu T0 (p = 0,018) und T3 zu T0 (p = 0,018) signifikant. Bei der Gruppe 2 ergaben die Vergleiche von T1 zu T0 (p = 0,028), T2 zu T0 (p = 0,018) sowie T3 zu T0 (p = 0,018) im Wilcoxon-Test Signifikanz. Bei der Gruppe 3 ergab der Vergleich T1 zu T0 im Wilcoxon-Test tendenzielle Signifikanz. Die Vergleiche von T2 zu T0 (p = 0,018) und T3 zu T0 (p = 0,018) waren bei der Gruppe 3 im Wilcoxon-Test signifikant.

Tabelle 37: Interleukin 1- β in ng/ml

Index	T0			T1			T2			T3		
	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ	\bar{x}	s	χ
Gr. 1	49,15	30,03	46,54	12,84	13,17	10,09	10,14	13,05	10,46	10,93	11,67	6,22
Gr. 2	49,28	26,34	46,64	19,19	18,28	16,07	7,28	6,78	6,13	7,48	6,79	6,58
Gr. 3	35,07	19,49	25,64	15,57	19,37	9,90	13,44	14,11	10,75	12,57	12,90	9,62

Tabelle 38: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test Interleukin-1 β

Kruskal-Wallis Test IL-1 β				
	T0	T1	T2	T3
p	0,511	0,624	0,738	0,777
Mediantest IL-1 β				
	T0	T1	T2	T3
p	0,466	0,826	0,466	0,263
Mann-Whitney-U-Test IL-1 β Gruppe 1 und 2				
	T0	T1	T2	T3

p	0,848	0,406	0,845	0,847
Mann-Whitney-U-Test IL-1β Gruppe 1 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,482	0,949	0,556	0,653
Mann-Whitney-U-Test IL-1β Gruppe 2 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,224	0,406	0,477	0,477

Tabelle 39: T-Test der Messwertdifferenzen IL-1 β

T-Test der Messwertdifferenzen IL-1β Gruppe 1 und 2			
	ΔIL-1β T1/T0	ΔIL-1β T2/T0	ΔIL-1β T3/T0
p	0,746	0,861	0,828
T-Test der Messwertdifferenzen IL-1β Gruppe 1 und 3			
	ΔIL-1β T1/T0	ΔIL-1β T2/T0	ΔIL-1β T3/T0
p	0,337	0,260	0,291
T-Test der Messwertdifferenzen IL-1β Gruppe 2 und 3			
	ΔIL-1β T1/T0	ΔIL-1β T2/T0	ΔIL-1β T3/T0
p	0,504	0,138	0,147

Tabelle 40: Friedman-Test und Wilcoxon-Test Interleukin-1 β

Friedman-Test IL-1β			
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
p	0,005	0,003	0,008
Wilcoxon-Test IL-1β Gruppe 1			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,018	0,018	0,018
Wilcoxon-Test IL-1β Gruppe 2			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,028	0,018	0,018
Wilcoxon-Test IL-1β Gruppe 3			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,063	0,018	0,018

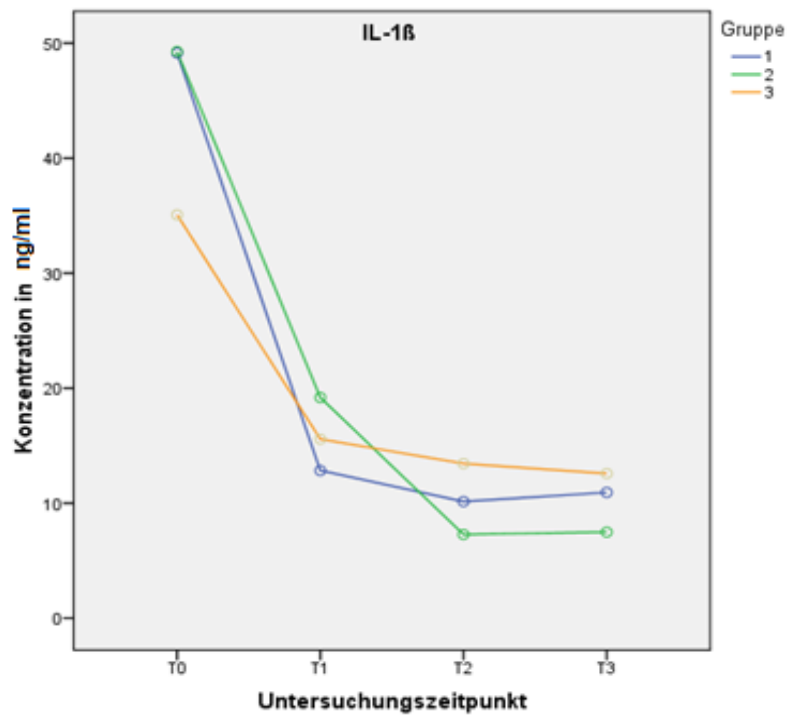


Abbildung 20: Ergebnisse Interleukin 1- β

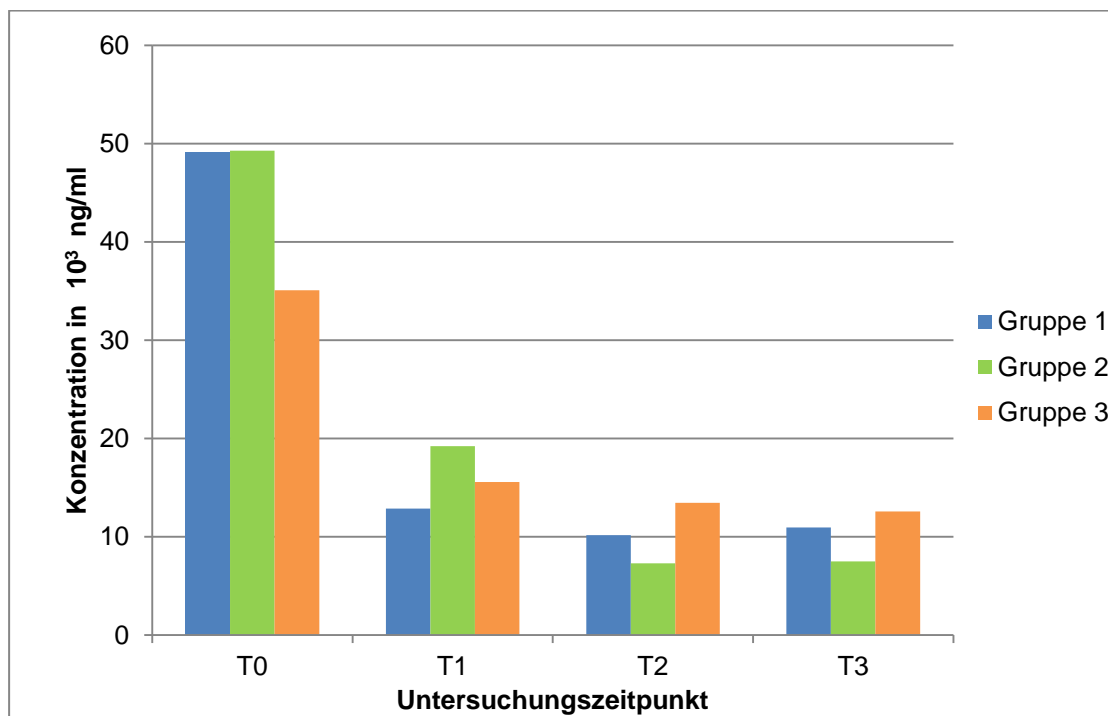


Abbildung 21: Ergebnisse Interleukin-1 β (Balkendiagramm)

5.5 Mikrobiologische Ergebnisse

5.5.1 *Fusobacterium nucleatum*

Aus Tabelle 41 und Abbildung 22 ist zu entnehmen, dass die Keimzahlen von *F. nucleatum* für die Gruppe 1 zum Zeitpunkt T0 $\bar{x} = 25,54 \cdot 10^6$, für Gruppe 2 $\bar{x} = 0,14 \cdot 10^6$ und für Gruppe 3 $\bar{x} = 0,30 \cdot 10^6$ betrugen. Im Studienverlauf sanken die Keimzahlen in der Gruppe 1 auf einen Tiefstwert von $\bar{x} = 0,00$ zum Zeitpunkt T2 und erreichten bei der Abschlussuntersuchung T3, einen Wert von $\bar{x} = 0,16 \cdot 10^6$. In der Gruppe 2 kam es während der Studie zu einem Anstieg der Keimzahlen, welche zum Zeitpunkt T2 ihr Maximum von $\bar{x} = 45,05 \cdot 10^6$ erreichte und bis zum Zeitpunkt T3 auf einen Wert von $\bar{x} = 44,35 \cdot 10^6$ leicht sank. In der Gruppe 3 erreichten die Keimzahlen ihr Maximum von $\bar{x} = 10,50 \cdot 10^6$ ebenfalls zum Zeitpunkt T2 und sanken zur Abschlussuntersuchung auf einen Wert von $\bar{x} = 0,13 \cdot 10^6$.

In den Tabellen 42 – 44 sind die Ergebnisse der statistischen Datenanalyse dargestellt. Wie in Tabelle 44 zu sehen, ergab der Friedman-Test bei der Gruppe 1 ($p = 0,066$) eine tendenzielle Signifikanz und bei der Gruppe 2 ($p = 0,022$) Signifikanz. Im Wilcoxon-Test der Gruppe 1 war der Vergleich der Untersuchungszeitpunkte T2 zu T0 ($p = 0,028$) signifikant. Bei der Gruppe 2 war der Vergleich von T1 zu T0 ($p = 0,028$) im Wilcoxon-Test signifikant.

Tabelle 41: Keimzahlen von *Fusobacterium nucleatum* (CFU · 10⁶)

Index	T0		T1		T2		T3	
	$\bar{x} \cdot 10^6$	$\chi \cdot 10^6$	$\bar{x} \cdot 10^6$	$\chi \cdot 10^6$	$\bar{x} \cdot 10^6$	$\chi \cdot 10^6$	$\bar{x} \cdot 10^6$	$\chi \cdot 10^6$
	$s \cdot 10^6$		$s \cdot 10^6$		$s \cdot 10^6$		$s \cdot 10^6$	
Gr. 1	25,54	0,03	0,09	0,00	0,00	0,00	0,16	0,01
	67320,61		0,23		8,28		344,01	
Gr. 2	0,14	0,03	0,00	0,00	45,05	0,00	44,35	0,00
	299,64		0,01		118620,07		117161,38	
Gr. 3	0,30	0,05	0,38	0,00	10,50	0,00	0,13	0,00
	645,14		1,00		27729,79		340,72	

Tabelle 42: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test *Fusobacterium nucleatum*

Kruskal-Wallis Test <i>F. nucleatum</i>				
	T0	T1	T2	T3
p	0,932	0,288	0,332	0,352
Mediantest <i>F. nucleatum</i>				
	T0	T1	T2	T3
p	0,826	0,263	0,558	0,263
Mann-Whitney-U-Test <i>F. nucleatum</i> Gruppe 1 und 2				
	T0	T1	T2	T3
p	0,898	0,396	0,143	0,949
Mann-Whitney-U-Test <i>F. nucleatum</i> Gruppe 1 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,898	0,327	0,495	0,163
Mann-Whitney-U-Test <i>F. nucleatum</i> Gruppe 2 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,609	0,152	0,432	0,267

Tabelle 43: T-Test der Messwertdifferenzen *F. nucleatum*

T-Test der Messwertdifferenzen <i>F. nucleatum</i> Gruppe 1 und 2			
	$\Delta F. nucleatum$ T1/T0	$\Delta F. nucleatum$ T2/T0	$\Delta F. nucleatum$ T3/T0
p	0,340	0,197	0,198
T-Test der Messwertdifferenzen <i>F. nucleatum</i> Gruppe 1 und 3			
	$\Delta F. nucleatum$ T1/T0	$\Delta F. nucleatum$ T2/T0	$\Delta F. nucleatum$ T3/T0
p	0,336	0,219	0,342
T-Test der Messwertdifferenzen <i>F. nucleatum</i> Gruppe 2 und 3			
	$\Delta F. nucleatum$ T1/T0	$\Delta F. nucleatum$ T2/T0	$\Delta F. nucleatum$ T3/T0
p	0,657	0,466	0,336

Tabelle 44: Friedman-Test und Wilcoxon-Test *F. nucleatum*

Friedman-Test <i>F. nucleatum</i>			
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
p	0,066	0,022	0,237
Wilcoxon-Test Gruppe 1			

	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,249	0,028	0,753
Wilcoxon-Test <i>F. nucleatum</i> Gruppe 2			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,028	0,866	0,866
Wilcoxon-Test <i>F. nucleatum</i> Gruppe 3			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,499	0,753	0,249

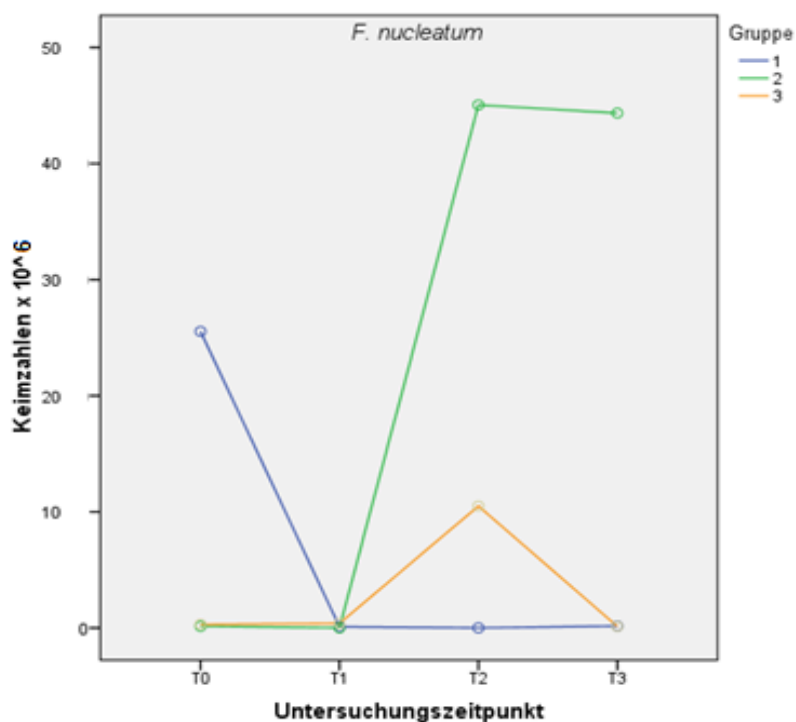


Abbildung 22: Ergebnisse *F. nucleatum*

5.5.2 *Treponema denticola*

Wie aus Tabelle 45 und Abbildung 23 zu entnehmen ist, betrugen die Keimzahlen von *T. denticola* zum Zeitpunkt T0 für die Gruppe 1 $\bar{x} = 22,74 \cdot 10^3$, für Gruppe 2 $\bar{x} = 0,13 \cdot 10^3$ und für Gruppe 3 $\bar{x} = 4,42 \cdot 10^3$. Im weiteren Studienverlauf sanken die Werte in der Gruppe 1 auf einen Tiefstwert von $\bar{x} = 1,18 \cdot 10^3$ zum Zeitpunkt T1 und stiegen in der Folge wieder an, bis sie zum Zeitpunkt T3 einen Wert von $\bar{x} = 8,26 \cdot 10^3$ erreichten. In der Gruppe 2 nahmen die Keimzahlen ebenfalls ab, erreichten zum Untersuchungszeitpunkt T2 den Wert von $\bar{x} = 0,01 \cdot 10^3$ und zum Zeitpunkt T3 $\bar{x} = 0,00$. In der Gruppe 3 sanken die Werte zum Zeitpunkt T1 auf

einen Wert von $\bar{x} = 0,24 \cdot 10^3$, zum Zeitpunkt T2 auf einen Wert von $\bar{x} = 0,16 \cdot 10^3$ und zum Zeitpunkt T3 auf einen Wert von $\bar{x} = 0,01 \cdot 10^3$.

Die Ergebnisse der statistischen Datenanalyse von *T. denticola* sind in den Tabellen 46 – 48 dargestellt. Der Vergleich aller drei Untersuchungsgruppen in der Kruskal-Wallis-Analyse ergab zum Zeitpunkt T3 eine Signifikanz ($p = 0,030$). Zum Untersuchungszeitpunkt T3 war der Mediantest gleichfalls signifikant ($p = 0,033$). Der Vergleich der Gruppen 1 und 2 im Mann-Whitney-U-Test zum Zeitpunkt T3 war signifikant ($p = 0,025$). Ebenfalls zum Zeitpunkt T3 war der Mann-Whitney-U-Test der Gruppen 1 und 3 tendenziell signifikant ($p = 0,074$). Der Friedman-Test der Gruppe 2 war signifikant ($p = 0,043$).

Tabelle 45: Keimzahlen von *Treponema denticola* (CFU · 10³)

Index	T0			T1			T2			T3		
	$\bar{x} \cdot 10^3$	$s \cdot 10^3$	$\chi \cdot 10^3$	$\bar{x} \cdot 10^3$	$s \cdot 10^3$	$\chi \cdot 10^3$	$\bar{x} \cdot 10^3$	$s \cdot 10^3$	$\chi \cdot 10^3$	$\bar{x} \cdot 10^3$	$s \cdot 10^3$	$\chi \cdot 10^3$
Gr. 1	22,74	40,72	0,00	1,18	3,00	0,00	7,95	21,02	0,00	8,26	21571,17	0,10
Gr. 2	0,13	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
Gr. 3	4,42	10,90	0,00	0,24	0,60	0,00	0,16	0,30	0,00	0,01	37,80	0,00

Tabelle 46: Kruskal-Wallis Test, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test *Treponema denticola*

Kruskal-Wallis Test <i>T. denticola</i>				
	T0	T1	T2	T3
p	0,849	0,311	0,735	0,030
Mediantest <i>T. denticola</i>				
	T0	T1	T2	T3
p	1,00	0,291	0,734	0,033
Mann-Whitney-U-Test <i>T. denticola</i> Gruppe 1 und 2				
	T0	T1	T2	T3
p	0,620	0,142	0,917	0,025
Mann-Whitney-U-Test <i>T. denticola</i> Gruppe 1 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,724	0,873	0,657	0,074
Mann-Whitney-U-Test <i>T. denticola</i> Gruppe 2 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,724	0,142	0,424	0,317

Tabelle 47: T-Test der Messwertdifferenzen *T. denticola*

T-Test der Messwertdifferenzen <i>T. denticola</i> Gruppe 1 und 2			
	$\Delta T. denticola$ T1/T0	$\Delta T. denticola$ T2/T0	$\Delta T. denticola$ T3/T0
p	0,164	0,453	0,466
T-Test der Messwertdifferenzen <i>T. denticola</i> Gruppe 1 und 3			
	$\Delta T. denticola$ T1/T0	$\Delta T. denticola$ T2/T0	$\Delta T. denticola$ T3/T0
p	0,268	0,596	0,614
T-Test der Messwertdifferenzen <i>T. denticola</i> Gruppe 2 und 3			
	$\Delta T. denticola$ T1/T0	$\Delta T. denticola$ T2/T0	$\Delta T. denticola$ T3/T0
p	0,318	0,320	0,316

Tabelle 48: Friedman-Test und Wilcoxon-Test *T. denticola*

Friedman-Test <i>T. denticola</i>			
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
p	0,234	0,043	0,127
Wilcoxon-Test <i>T. denticola</i> Gruppe 1			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,109	0,285	0,686
Wilcoxon-Test <i>T. denticola</i> Gruppe 2			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,109	0,109	0,109
Wilcoxon-Test <i>T. denticola</i> Gruppe 3			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,144	0,109	0,109

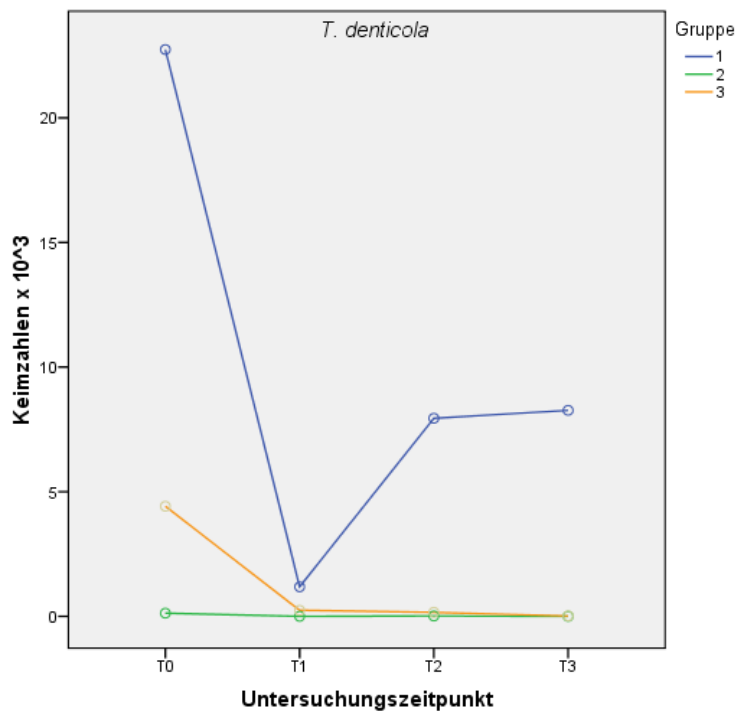


Abbildung 23: Ergebnisse *T. denticola*

5.5.3 *Prevotella intermedia*

Aus der Tabelle 49 und Abbildung 24 ist zu entnehmen, dass zu den Zeitpunkten T0, T1 und T2 für die Gruppe 1 keine *P. intermedia* nachgewiesen werden konnten. Zum Zeitpunkt T3 betrugen die Keimzahlen $\bar{x} = 0,02 \cdot 10^3$. In der Gruppe 2 betrugen die Keimzahlen zu Studienbeginn T0 $\bar{x} = 0,03 \cdot 10^3$, stiegen auf $\bar{x} = 0,08 \cdot 10^3$ zum Zeitpunkt T1 und waren zu den Zeitpunkten T2 und T3 nicht mehr nachweisbar. In der Gruppe 3 wurden Keimzahlen von $\bar{x} = 0,14 \cdot 10^3$ zu T0, von $\bar{x} = 0,00$ zu T1, von $\bar{x} = 0,09 \cdot 10^3$ zu T2 und von $\bar{x} = 0,04 \cdot 10^3$ zu T3 ermittelt.

In den Tabellen 50 – 52 ist zu sehen, dass der Vergleich der Gruppen 1 und 3 im Mann-Whitney-U-Test zum Zeitpunkt T0 tendenziell signifikant ($p = 0,062$) war.

Tabelle 49: Keimzahlen von *Prevotella intermedia* (CFU · 10³)

Index	T0			T1			T2			T3		
	$\bar{x} \cdot 10^3$	$s \cdot 10^3$	$\chi \cdot 10^3$	$\bar{x} \cdot 10^3$	$s \cdot 10^3$	$\chi \cdot 10^3$	$\bar{x} \cdot 10^3$	$s \cdot 10^3$	$\chi \cdot 10^3$	$\bar{x} \cdot 10^3$	$s \cdot 10^3$	$\chi \cdot 10^3$
Gr. 1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	39,31	0,00
Gr. 2	0,03	0,07	0,00	0,08	164,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Gr. 3	0,14	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	245,90	0,00	0,04	115,34	0,00

Tabelle 50: Kruskal-Wallis, Mediantest und Mann-Whitney-U-Test *P. intermedia*

Kruskal-Wallis Test <i>P. intermedia</i>				
	T0	T1	T2	T3
p	0,101	0,122	0,36	0,589
Mediantest <i>P. intermedia</i>				
	T0	T1	T2	T3
p	0,115	0,110	0,350	0,575
Mann-Whitney-U-Test <i>P. intermedia</i> Gruppe 1 und 2				
	T0	T1	T2	T3
p	0,317	0,142	1,00	0,317
Mann-Whitney-U-Test <i>P. intermedia</i> Gruppe 1 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,062	1,00	0,317	0,917
Mann-Whitney-U-Test <i>P. intermedia</i> Gruppe 2 und 3				
	T0	T1	T2	T3
p	0,174	0,142	0,317	0,317

Tabelle 51: T-Test der Messwertdifferenzen *P. intermedia*

T-Test der Messwertdifferenzen <i>P. intermedia</i> Gruppe 1 und 2			
	$\Delta P. intermedia$ T1/T0	$\Delta P. intermedia$ T2/T0	$\Delta P. intermedia$ T3/T0
p	0,191	0,337	0,200
T-Test der Messwertdifferenzen <i>P. intermedia</i> Gruppe 1 und 3			
	$\Delta P. intermedia$ T1/T0	$\Delta P. intermedia$ T2/T0	$\Delta P. intermedia$ T3/T0
p	0,099	0,312	0,291
T-Test der Messwertdifferenzen <i>P. intermedia</i> Gruppe 2 und 3			
	$\Delta P. intermedia$ T1/T0	$\Delta P. intermedia$ T2/T0	$\Delta P. intermedia$ T3/T0
p	0,048	0,703	0,515

Tabelle 52: Friedman-Test und Wilcoxon-Test *P. intermedia*

Friedman-Test <i>P. intermedia</i>			
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
p	0,392	0,145	0,328
Wilcoxon-Test <i>P. intermedia</i> Gruppe 1			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	1,00	1,00	0,317
Wilcoxon-Test <i>P. intermedia</i> Gruppe 2			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,180	0,317	0,317
Wilcoxon-Test <i>P. intermedia</i> Gruppe 3			
	T1 – T0	T2 – T0	T3 – T0
p	0,109	0,285	0,465

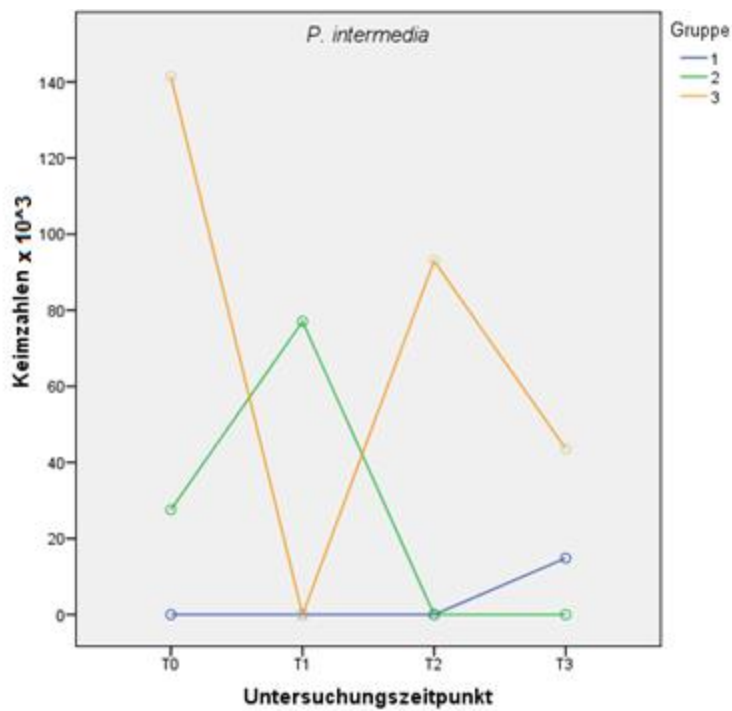


Abbildung 24: Ergebnisse *P. intermedia*

6 Diskussion

6.1 Diskussion der Methode

Die durchgeführten Untersuchungen orientierten sich am Studiendesign von Loe et al. (Loe et al. 1965). Die bereits 1965 publizierte Grundlagenstudie weist einen allgemeingültigen Studienaufbau auf, der häufig bei der Analyse von Präparaten auf ihre Wirksamkeit bei oralen Entzündungen angewendet wird. Dieses Studiendesign entspricht dem Goldstandard. Das bietet den Vorteil der hohen Vergleichbarkeit mit nationalen wie internationalen Studien.

Trotz umfangreicher Akquise erklärten sich sehr wenige Freiwillige zur Teilnahme an dieser Studie bereit. Mögliche Ursachen für die geringe Bereitschaft können in dem gesteigerten Anspruch auf orale Hygiene oder in einem zu geringen finanziellen Anreiz liegen. Aufgrund der vorgegebenen Ein- und Ausschlusskriterien mussten die 87 Freiwilligen, welche sich zur Erstuntersuchung bereit erklärten, auf 21 geeignete Probanden reduziert werden.

Grundvoraussetzung dieser Studie war die Erhebung vergleichbarer Datensätze durch eine genormte Befunderhebung und eine genormte Entnahme des Probenmaterials, die ausschließlich durch einen Behandler (P.W.) erfolgte. Differierende Untersuchungsergebnisse als Folge unterschiedlicher Aufarbeitung wurden somit vermieden (Armitage 2003).

Zur Bestimmung der Plaquemenge wurde die Turesky-Modifikation des Quigley-Hein-Index verwendet. Aufgrund der Proportionalität der Plaquemenge zum Ausmaß der gingivalen Entzündung lassen sich Rückschlüsse vom Plaqueindex auf die Wirksamkeit des untersuchten Präparates ziehen.

Die direkte Beurteilung des Schweregrads der gingivalen Entzündung erfolgte anhand des Gingivalindex nach Lobene. Bei diesem Index erfolgt die Beurteilung der gingivalen Entzündung anhand der Leitsymptome einer Gingivitis: Rötung, Schwellung, Ödembildung, Verlust des Stippings, Blutung, Ulzeration und Anstieg der Sulkusflüssigkeitsfließrate (Lobene et al. 1986). Die Untersuchungen wurden ausschließlich von einem Behandler (P.W.) durchgeführt. Desweiteren wurden die Untersuchungsbedingungen (Materialien, Beleuchtung, etc.) konstant gehalten. Somit wurden mögliche Messfehler minimiert und eine hohe Reliabilität erreicht.

Zur weiteren Diagnostik des Entzündungsgrads der Gingiva wurde die Sulkusflüssigkeitsfließrate, welche proportional zu dem Entzündungszustand ist, bestimmt (Del Fabbro et al. 2001). Durch die Einhaltung definierter Messmethoden und –zeiten sowie der

Verwendung kalibrierter Messinstrumente wurden ebenfalls eine hohe Reliabilität und geringe Messfehler erreicht.

Die Probenentnahme erfolgte für die biochemischen Untersuchungen mittels Periopaper (Periopaper™, Oraflow, Smithtown, New York, USA), für die mikrobiologischen Untersuchungen mittels Papierspitzen ISO 60 (Roeko GmbH & Co. KG, Langenau, Deutschland). Dieses Verfahren wurde der Probenentnahme mittels steriler Kürette vorgezogen, da beide Verfahren in Hinsicht der Nachweishäufigkeit der Keime vergleichbare Ergebnisse erzielen (Jervoe-Storm et al. 2007). Bei der Verwendung von Papierspitzen wird die äußerste Schicht des Biofilms absorbiert. Diese enthält die vorwiegend pathogenen Keime des Biofilms (Renvert et al. 1990, Socransky et al. 1998, Socransky & Haffajee 2002). Ein Zeitintervall von 30 Sekunden für das Belassen des Trägermaterials im Sulkus wird als ausreichend für die Gewinnung repräsentativer Proben angesehen (Hartroth et al. 1999). Die jeweils vier gewonnenen Proben wurden im Anschluss zusammengefasst und als „gepoolte“ Proben ausgewertet. Dies wird als gleichwertige Nachweismethode zu der Einzelauswertung angesehen (Schacher et al. 2007).

Die Konstanz der Versuchsbedingungen wurde durch intensive Aufklärung über das Studienmodell und der damit verbundenen Verhaltensweisen der Probanden erzielt. Allerdings konnte die Einhaltung der Versuchsbedingungen nur zu den Untersuchungsterminen kontrolliert werden.

Die Reihenfolge der erhobenen Indizes und Parameter während der jeweiligen Untersuchungen wurden so gewählt, dass sich diese nicht gegenseitig beeinflussen können. Daraus ergab sich folgende Reihenfolge:

1. Gingivitisindex
2. Bestimmung der Sulkusflüssigkeitsfließrate
3. Biochemische Probenentnahme
4. Mikrobiologische Probenentnahme
5. Plaqueindex

Auf diese Weise konnten durchgehend gleichbleibende Bedingungen gewährleistet werden und mögliche Messfehler reduziert sowie die Reliabilität erhöht werden. Bei den hier verwendeten Indizes und Parametern handelt es sich um gebräuchliche Parameter nationaler wie internationaler Studien.

6.2 Diskussion der Ergebnisse

6.2.1 Änderung des Plaqueindex

Wie zu erwarten war, kam es mit Beginn der experimentellen Gingivitis zum Anstieg des Plaqueindex, welcher wiederum beim Einsetzen der Mundhygiene signifikant absank. In den statistischen Analysen wurden keine signifikanten Differenzen zwischen der Verum-, Placebo- und Kontrollgruppe ermittelt. Allerdings wies die Cervitec® Gruppe während der Testphase stets geringere Messwerte als die beiden anderen Gruppen auf und erreichte zur Abschlussuntersuchung den geringsten Plaqueindex im Vergleich der Gruppen. Dieser war sogar geringer als der Wert der Voruntersuchung. Die Ergebnisse decken sich mit den Kenntnissen der Experimental Gingivitis in man Studie von Loe et al. (1965). In dieser wurde gezeigt, dass innerhalb von 7-11 Tagen nach Einsetzen der Mundhygiene die Ausgangswerte wieder erreicht werden. Da die erste Kontrolluntersuchung nach 14 Tagen stattfand, war eine signifikante Differenz zwischen den Gruppen kaum zu erwarten. Als Erkenntnis bleibt, dass Mundhygiene eine effektive Therapie gegen Plaque ist.

6.2.2 Änderung des Gingivalindex nach Lobene

Während des Mundhygieneverzichts stieg der Gingivitisindex in allen drei Gruppen deutlich an und erreichte einen Wert entsprechend einer leichten Entzündung, welche sich bereits auf die marginale bzw. papilläre Einheit ausgeweitet hat. Mit einsetzender Mundhygiene sank der Gingivitisindex deutlich ab und erreichte zur Abschlussuntersuchung den Wert 0, keine Entzündung. In allen drei Gruppen war die Reduzierung des Gingivitisindex gegen die Zeit signifikant. Zum Zeitpunkt T2 (21 Tage nach Wiederaufnahme der Mundhygiene) wurde eine tendenzielle Differenz zwischen den Werten der Placebo- und der Kontrollgruppe ermittelt. Zu dieser Untersuchung lag der Wert der Kontrollgruppe über dem der Placebogruppe. Obwohl die Ausgangs- als auch die Abschlusswerte der jeweiligen Gruppe „keiner Entzündung“ entsprachen, wurde bei der Verum- und der Placebogruppe ein signifikant höherer Abschlusswert als Ausgangswert ermittelt.

Somit reagieren alle drei Gruppen auf eine experimentelle Plaqueakkumulation mit einer gingivalen Entzündung und dementsprechend mit einem Anstieg des Gingivitisindex. Bereits bei Loe et al. sank der Gingivitisindex nach Wiedereinsetzen der Mundhygiene innerhalb einer Woche auf das Niveau der Ausgangswerte. In dieser Studie erfolgte die erste

Kontrolluntersuchung nach 14 Tagen, sodass Aussagen über die Wirksamkeit des Verums anhand statistischer Gruppenunterschiede kaum möglich waren.

6.2.3 Änderung der Sulkusflüssigkeitsfließrate

An den Zähnen 15 und 25 lagen zur Baseline Untersuchung für die Sulkusflüssigkeitsfließrate Werte einer leichten Gingivitis für alle drei Gruppen vor. Zum selben Zeitpunkt entsprachen die Werte am Zahn 35 einer etablierten Gingivitis und am Zahn 45 einer leichten Gingivitis für die Verum- und Placebogruppe bzw. einer etablierten Gingivitis bei der Kontrollgruppe. Mit Einsetzen der Mundhygiene sank die Sulkusflüssigkeitsfließrate bis zur Abschlussuntersuchung signifikant in allen drei Gruppen an allen Messstellen. Beim Vergleich der Verumgruppe mit der Kontrollgruppe am Zahn 15 waren die Werte in der Verumgruppe mit tendenzieller Signifikanz geringer. An den anderen Messstellen war kein statistischer Unterschied zwischen den Gruppen zu ermitteln, allerdings wurde in weiteren statistischen Analysen ein schnellerer Heilungsverlauf bei der Therapie mit Cervitec® Gel belegt. So sank nur bei der Verumgruppe an Zahn 15 die Sulkusflüssigkeitsfließrate auf den Wert einer gesunden Gingiva zur Abschlussuntersuchung. An den Zähnen 15 und 25 wurde bei der Verumgruppe bereits zum Untersuchungszeitpunkt T2 eine signifikante Differenz gegenüber dem Wert der Baseline ermittelt. In den anderen Gruppen und an den anderen Messstellen war die Differenz erst zur Abschlussuntersuchung signifikant, sodass hier statistisch signifikant eine um eine Woche schnellere Heilung unter Therapie mit Cervitec® Gel nachgewiesen wurde.

Der erhöhte Wert der Sulkusflüssigkeitsfließrate zur Baseline Untersuchung deckt sich mit den bisherigen wissenschaftlichen Erkenntnissen. Mit einer zunehmenden Entzündung steigt die vaskuläre Permeabilität und ebenso die Sulkusflüssigkeitsfließrate (Goodson 2003, Griffiths 2003, Holm-Pedersen & Loe 1967, Lamster et al. 1985, Oliver et al. 1969, Rudin et al. 1970). Mit einsetzender Mundhygiene sinkt die Sulkusflüssigkeit in allen drei Gruppen. Allerdings sinken die Messwerte in der Verumgruppe schneller und es werden niedrigere Abschlusswerte als bei der Placebo- bzw. Kontrollgruppe erreicht.

6.2.4 Änderung von Matrixmetalloproteinase-8

Zur Baseline Untersuchung war die MMP-8 Konzentration bei der Verum- und Kontrollgruppe erhöht. Mit Einsetzen der Mundhygiene sank die Konzentration und erreichte zur Abschlussuntersuchung ihren Tiefstwert. Bei der Kontrollgruppe waren die MMP-8 Konzentrationen kaum erhöht und blieben trotz wiederaufgenommener Mundhygiene mit leichten Schwankungen konstant. Zur Baseline lag in der Verumgruppe eine signifikant höhere MMP-8 Konzentration als in den anderen beiden Gruppen vor. Zur Abschlussuntersuchung gab es keine statistische Differenz der Abschlusswerte der jeweiligen Gruppen. Mit Einsetzen der Mundhygiene und Verwendung des Cervitec® Gels sank die MMP-8 Konzentration am steilsten. Diese steilere Konzentrationssenkung in der Verumgruppe ist in den statistischen Analysen nachweisbar. In diesen wird mit statistischer Signifikanz frühzeitig die Konzentrationssenkung belegt. Bei dem angewandten Studienmodell ist bei der Verwendung von Cervitec® Gel bereits nach 21 Tagen statistisch signifikant ein schnellerer Heilungsverlauf nachweisbar. Wohingegen sich bei der Placebogruppe erst nach 28 Tagen eine tendenziell signifikante Reduzierung der MMP-8 Konzentration im Vergleich zur Baseline nachweisen ließ. Die erhöhten MMP-8 Konzentrationen entsprechen der erwarteten Abwehrreaktion der Gingiva auf die induzierte Entzündung. Der Konzentrationsanstieg und die anschließende Senkung in der Testphase entsprechen den bisherigen wissenschaftlichen Erkenntnissen (Gupta et al. 2015, Leppilähti et al. 2014).

6.2.5 Änderung von Interleukin 1-β

Nach Induktion einer experimentellen Gingivitis lagen zur Baseline Untersuchung in allen drei Gruppen erhöhte IL-1β Konzentrationen vor. Diese Ergebnisse bestätigen die wissenschaftliche Erkenntnis, dass bei einer Gingivitis ein erhöhter IL-1β Spiegel vorliegt (Syndergaard et al. 2014). Da die IL-1β Konzentration proportional dem Schweregrad der Entzündung ist (Stashenko et al. 1991), sinkt die Konzentration mit Wiederaufnahme der Mundhygiene in allen drei Gruppen. Unter Verwendung von Cervitec® Gel sinkt der IL-1β Spiegel innerhalb der ersten 14 Tage am steilsten, sodass eine schnellere Entzündungsreduktion unter Verwendung des Verumpräparats nachzuweisen war.

6.2.6 Änderung von *Fusobacterium nucleatum*

Nach Induktion der experimentellen Gingivitis liegen in der Verumgruppe die höchsten Keimzahlen für *F. nucleatum* vor. Bei der Placebo- und Kontrollgruppe liegen hingegen niedrige Ausgangswerte vor. Mit einsetzender Mundhygiene sinken die Keimzahlen in der Cervitec® Gruppe steil ab und erreichen ein konstant niedriges Niveau. In der Placebogruppe steigen die *F. nucleatum* Keimzahlen zwischenzeitlich steil an und bleiben auf diesem erhöhten Niveau. In der Kontrollgruppe war lediglich zum Zeitpunkt T2 ein Anstieg der *F. nucleatum* Keimzahlen zu verzeichnen. Anschließend sank der Wert auf das geringe Ausgangsniveau. Ein statistisch signifikanter Gruppenunterschied war nicht zu ermitteln. Allerdings wurde statistisch signifikant die Reduzierung der Keimzahlen von *F. nucleatum* in der Cervitec® Gruppe bestätigt.

Die ermittelten Ergebnisse der Placebo- und Kontrollgruppe können nicht mit den wissenschaftlichen Erkenntnissen, dass *F. nucleatum* mit der Schwere der parodontalen Schädigung in Zusammenhang steht und mit dem Fortschreiten einer parodontalen Entzündung ansteigt (Liu et al. 2014, Yang et al. 2014), und den klinisch erhobenen Indizes erklärt werden.

6.2.7 Änderung von *Treponema denticola*

Nach Induktion der experimentellen Gingivitis lag bei der Verumgruppe die höchste Keimzahl vor. Diese sank umgehend nach wiederaufgenommener Mundhygiene steil ab, um anschließend wieder anzusteigen und auf einem erhöhten Niveau zu verbleiben. Bei der Placebogruppe lagen konstant sehr geringe Keimzahlen, gegen Null gehend, vor. Es war über den gesamten Studienverlauf keine signifikante Messwertentwicklung nachweisbar. In der Kontrollgruppe lag zur Baseline ebenfalls ein erhöhter Wert vor, dieser sank mit Einsetzen der Mundhygiene und blieb dauerhaft auf einem sehr niedrigen Niveau. Als statistisch signifikant erwies sich der Gruppenunterschied zwischen den drei Gruppen zum Untersuchungszeitpunkt T3. Zu diesem Zeitpunkt war die Keimzahl von *T. denticola* in der Verumgruppe signifikant höher.

Eine erhöhte Keimzahl nach der experimentellen Gingivitis war anzunehmen, da *T. denticola* häufiger an erkrankten Stellen als an gesunden Stellen nachgewiesen werden kann (Riviere et al. 1992, Simonson et al. 1988). Warum die Messwerte der verschiedenen Gruppen so sehr voneinander abweichen ist nach aktuellem Kenntnisstand nicht zu erklären. Allerdings

weist Cervitec® Gel keinen Effekt auf die subgingivale Plaque auf, sodass keine Beeinflussung der subgingivalen Mikroorganismen zu erwarten war (Jentsch et al. 2014).

6.2.8 Änderung von *Prevotella intermedia*

Die Keimzahlen von *P. intermedia* divergieren während des gesamten Studienverlaufs sehr stark innerhalb sowie zwischen den Gruppen. Der Verlauf der Messwerte entspricht nicht den wissenschaftlichen Erkenntnissen, nach der die *P. intermedia* Konzentration an parodontal erkrankten Stellen höher ist als an gesunden (Salminen et al. 2015). Trotz der abklingenden gingivalen Entzündung steigt und sinkt die Keimzahl im weiteren Studienverlauf scheinbar willkürlich, sodass eher keine wissenschaftlichen Erkenntnisse daraus gezogen werden können.

6.3 Schlussfolgerung

In dieser Studie sanken nach Einsetzen der Mundhygiene die erhobenen klinischen Indizes, die Sulkusflüssigkeitsfließrate und die biochemischen Variablen. Die vereinzelt Schwankungen in den Messwerten sind mit dem starken Einfluss individueller Extreme auf das Gesamtergebnis der jeweiligen Gruppe zu begründen. Dies ist möglich aufgrund der geringen Stichprobengröße. Allerdings lassen sich nur anhand der geringen Stichprobengröße die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen nicht erklären. Dazu waren die gewonnenen Ergebnisse zu verschieden innerhalb einer Gruppe.

Mit Rücksichtnahme auf die geringe Stichprobengröße und die geringe statistische Signifikanz, lässt sich eine plaque- und, in Teilen, gingivitis-hemmende Wirkung des Cervitec® Gels bestätigen. Allerdings zeigen die gewonnenen Ergebnisse viel mehr einen schnelleren Heilungsverlauf einer Gingivitis bei Anwendung des Cervitec® Gels. Die plaque-hemmende Wirkung lässt sich mit der stets geringeren Plaqueakkumulation in der Verumgruppe begründen. Zudem wurde ausschließlich unter Therapie mit Cervitec Gel ein geringerer Abschluss- als Ausgangswert des Plaqueindex erreicht. Statistisch belegen lässt sich ein schnellerer Heilungsverlauf in der Verumgruppe. Unter Therapie mit Cervitec® Gel sanken die Sulkusflüssigkeitsfließrate sowie die MMP-8 Konzentration signifikant schneller. Die Interleukin-1 β Konzentration sank innerhalb der ersten 14 Tage in der Verumgruppe schneller als in jeder anderen Gruppe. Unter Beachtung der stark differierenden Ergebnisse

lassen sich dennoch Erkenntnisse aus den mikrobiologischen Untersuchungen ziehen. So sank nur in der Cervitec® Gruppe die Keimzahl von *F. nucleatum* konsequent, von *T. denticola* sank die Keimzahl am steilsten und von *P. intermedia* waren kaum Bakterien nachweisbar.

Die Stichprobengröße des in drei Gruppen separierten Probandenguts war sehr klein. Trotz sehr umfangreicher Akquise war die Teilnahmebereitschaft an dieser Studie sehr gering. Um einen Anstieg der Stichprobengröße zu bewirken, müssen neue Anreize geschaffen oder, viel eher, die Unannehmlichkeiten einer experimentellen Gingivitis reduziert werden. Die Aufwandsentschädigung von 50 € pro Person, wie in dieser Studie, war für keinen der Probanden das ausschlaggebende Argument zur Teilnahme an dieser Studie. Insofern ist eine einfache Erhöhung des Geldbetrags nicht zielführend. Aber wenn man, z.B. mithilfe individueller Schienen, eine partielle Mundhygiene zulassen könnte und nur in einem Quadranten eine experimentelle Gingivitis induziert, wäre die Teilnahmebereitschaft ungleich größer.

Die Hauptaussage ist, dass eine plaquehemmende Wirkung nachgewiesen wurde. Allerdings kann keine gingivitishemmende Wirkung, im engeren Sinne, bestätigt werden, da das Cervitec® Gel erst nach Induktion einer experimentellen Gingivitis erstmalig verwendet wurde. Dafür lässt sich eine schnellere Heilung einer Gingivitis unter Therapie mit Cervitec® Gel belegen.

7 Zusammenfassung

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Dr. med. dent.

In Vivo–Untersuchung der plaque- und gingivitishemmenden Wirkung einer Kombination aus Chlorhexidindiglukonat und Natriumfluorid in Gelform

eingereicht von

Peter Weise

angefertigt im

Funktionsbereich Parodontologie der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
Universität Leipzig

betreut von

Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. H. Jentsch

März 2018

Diese Studie soll anhand klinischer, biochemischer und mikrobiologischer Untersuchungen die plaque- und gingivitishemmende Wirkung eines Kombinationspräparats von Chlorhexidindiglukonat und Natriumfluorid in Gelform nach Induktion einer experimentellen plaqueinduzierten Gingivitis untersuchen.

Fluoride und Chlorhexidindiglukonat zählen zu den Schlüsselkomponenten der Präparate zur oralen Gesundheitsförderung. In einer Vielzahl an Studien konnte bereits deren positive Wirkung in der Prävention und Behandlung von oralen Erkrankungen nachgewiesen werden.

An dieser doppelt verblindeten, randomisierten Untersuchung nahmen 21 Probanden im Alter von 19 – 29 Jahren (\bar{x} : 23,95 Jahre) teil. Diese wurden zu jeweils sieben Probanden den drei Gruppen zugeteilt (Verumgruppe, Placebogruppe, Kontrollgruppe).

Zunächst erfolgte die Voruntersuchung, in dieser wurden die ersten Parameter erhoben und kontrolliert, ob die Probanden die Ein- und Ausschlusskriterien erfüllen. Im Anschluss daran verzichteten alle Probanden für 14 Tage auf die mechanische und chemische Plaquekontrolle. Nach diesen zwei Wochen erfolgte die randomisierte Einteilung in die jeweiligen Gruppen: Die Verumgruppe, in welcher die Probanden für die folgenden 28 Tage einmal täglich etwa 2,5 g Cervitec® Gel auf den Zahnfleischrand auftrugen. Die Placebogruppe, in welcher sich die Probanden ebenfalls für die folgenden 28 Tage 2,5 g eines Placebopräparats auf den Zahnfleischrand auftrugen. Die Kontrollgruppe, in der kein zusätzliches Präparat angewendet wurde. In allen drei Gruppen wurde ab diesem Zeitpunkt auf die gleiche Art und Weise bis zum Studienende die zweimal tägliche Zahnreinigung mittels Handzahnbürste und Zahnpasta vorgenommen.

Die durch ein und denselben instruierten Untersucher (P.W.) durchgeführten Untersuchungen fanden zu den in Abbildung 25 dargestellten Zeitpunkten statt:

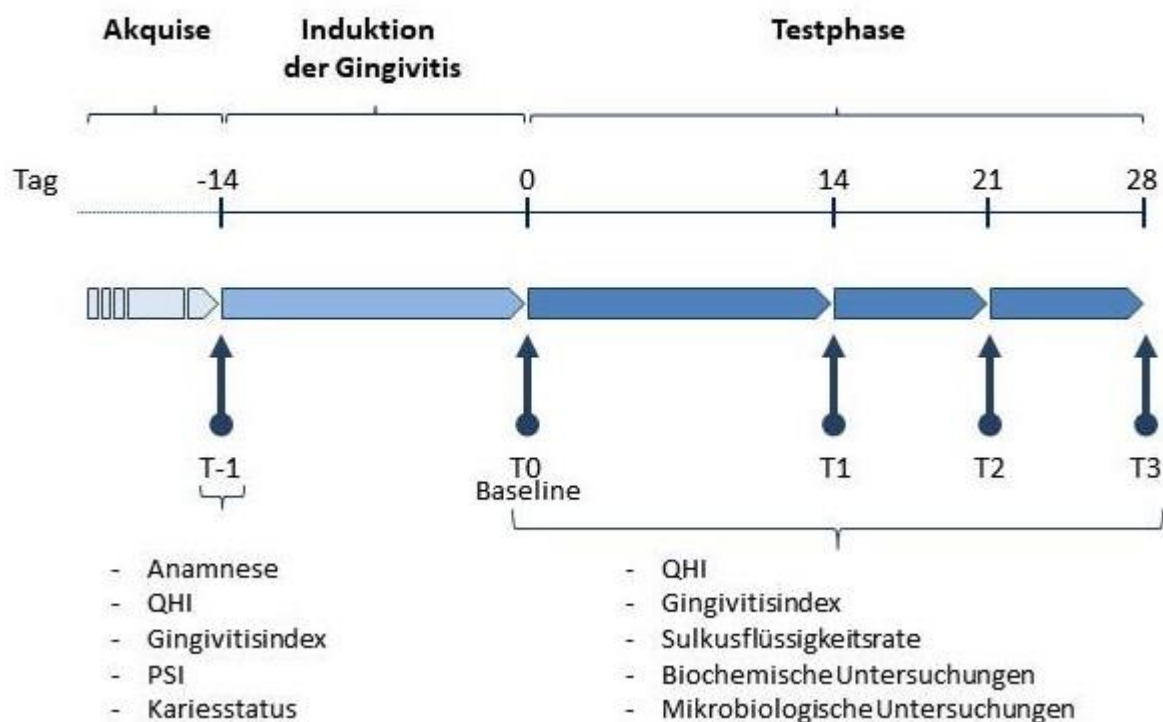


Abbildung 25: Studienverlauf

Es erfolgte die statistische Auswertung innerhalb und zwischen den Gruppen zu den Untersuchungszeitpunkten sowie der Veränderung zwischen den Untersuchungszeitpunkten.

Es ergaben sich folgende Ergebnisse: Mit Einsetzen der Mundhygiene nach der experimentellen Gingivitis sanken in allen Gruppen die Entzündungsparameter zügig ab. Allerdings gab es Unterschiede zwischen den Gruppen in dieser Phase. So lag ausschließlich in der Verumgruppe der Abschlusswert des Quigley-Hein-Index unter dem Wert der Voruntersuchung. Anhand der statistischen Analysen wurde ein schnellerer Heilungsverlauf in der Verumgruppe nachgewiesen (Mann-Whitney-U-Test: SFFR 15 Gruppe 1 und 3 $p = 0,096$; Wilcoxon-Test Gruppe 1: SFFR 15 $T_2 - T_0$ $p = 0,043$; $T_3 - T_0$ $p = 0,018$; SFFR 25 $T_2 - T_0$ $p = 0,027$; MMP-8 $T_2 - T_0$ $p = 0,028$). Die schnellere Entzündungsabnahme in der Verumgruppe bestätigt die signifikant um sieben Tage schnellere Reduzierung der Sulkusflüssigkeitsfließrate und der MMP-8 Konzentration unter Verwendung von Cervitec[®] Gel. Ebenso wurde nachgewiesen, dass in der Verumgruppe die Interleukin-1 β Konzentration innerhalb der ersten 14 Tage am schnellsten sank. Darüberhinaus wurde festgestellt, dass nur in der Verumgruppe die Keimzahlen von *F. nucleatum* konsequent und signifikant sanken ($p = 0,028$). In der Verumgruppe sanken die Keimzahlen von *T. denticola* überdies am schnellsten.

Innerhalb der Grenzen der vorliegenden Untersuchungen kann man in aller Vorsicht die Studienergebnisse wie folgt zusammenfassen: Das untersuchte Verumpräparat, Cervitec[®] Gel, mit den Inhaltsstoffen 0,2% Chlorhexidindiglukonat und 900 ppm Fluorid als Natriumfluorid, hat eine plaque- und entzündungshemmende Wirkung. Weitere Erkenntnisse dieser Studie sind eine um sieben Tage schnellere Entzündungsabnahme nach einer experimentellen Gingivitis unter Verwendung von Cervitec[®] Gel und einer antibakteriellen Wirkung. Die mikrobiologische Wirkung auf supragingivale Bakterien wird anhand des stets geringeren Plaqueindex in der Verumgruppe nachgewiesen. Antibakteriell wirkt Cervitec[®] Gel auf die subgingivalen Mikroorganismen *F. nucleatum*, *T. denticola* und *P. intermedia*.

8 Literaturverzeichnis

1. Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I. & Dewhirst, F. E. (2005). Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of Clinical Microbiology* **43**, 5721–5732.
2. Addy, M., Dummer, P. M., Hunter, M. L., Kingdon, A. & Shaw, W. C. (1987). A study of the association of fraenal attachment, lip coverage, and vestibular depth with plaque and gingivitis. *Journal of Periodontology* **58**, 752–757.
3. Addy, M., Moran, J., Newcombe, R. & Warren, P. (1995). The comparative tea staining potential of phenolic, chlorhexidine and anti-adhesive mouthrinses. *Journal of Clinical Periodontology* **22**, 923–928.
4. Ala-aho, R. & Kahari, V.-M. (2005). Collagenases in cancer. *Biochemie* **87**, 273–286.
5. Albandar, J. M., Brown, L. J., Brunelle, J. A. & Löe, H. (1996). Gingival state and dental calculus in early-onset periodontitis. *Journal of Periodontology* **67**, 953–959.
6. Albandar, J. M., Brunelle, J. A. & Kingman, A. (1999). Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *Journal of Periodontology* **70**, 13–29.
7. Albandar, J. M., Buischi, Y. A. & Axelsson, P. (1995). Caries lesions and dental restorations as predisposing factors in the progression of periodontal diseases in adolescents. A 3-year longitudinal study. *Journal of Periodontology* **66**, 249–254.
8. Allenspach-Petrzilka, G. E. & Guggenheim, B. (1982). *Bacteroides melaninogenicus* ss. *intermedius* invasion of rat gingival tissue. *Journal of Periodontal Research* **17**, 456–459.
9. Anagnou-Vareltzides, A., Diamanti-Kipioti, A., Afentoulidis, N., Moraitaki-Tsami, A., Lindhe, J., Mitsis, F. & Papapanou, P. N. (1996). A clinical survey of periodontal conditions in Greece. *Journal of Clinical Periodontology* **23**, 758–763.
10. Andersen, R. N., Ganeshkumar, N. & Kolenbrander, P. E. (1998). *Helicobacter pylori* adheres selectively to *Fusobacterium* spp. *Oral Microbiology and Immunology* **13**, 51–54.
11. Andres, C. J., Shaeffer, J. C. & Windeler, A. S., JR (1974). Comparison of antibacterial properties of stannous fluoride and sodium fluoride mouthwashes. *Journal of Dental Research* **53**, 457–460.
12. Appelbaum, P. C., Spangler, S. K. & Jacobs, M. R. (1990). Beta-lactamase production and susceptibilities to amoxicillin, amoxicillin-clavulanate, ticarcillin, ticarcillin-clavulanate, cefoxitin, imipenem, and metronidazole of 320 non-*Bacteroides fragilis* *Bacteroides* isolates and 129 fusobacteria from 28 U.S. centers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **34**, 1546–1550.

13. Armitage, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of Periodontology / the American Academy of Periodontology* **4**, 1–6.
14. Armitage, G. C. (2003). Diagnosis of periodontal diseases. *Journal of Periodontology* **74**, 1237–1247.
15. Armitage, G. C., Dickinson, W. R., Jenderseck, R. S., Levine, S. M. & Chambers, D. W. (1982). Relationship between the percentage of subgingival spirochetes and the severity of periodontal disease. *Journal of Periodontology* **53**, 550–556.
16. Ashimoto, A., Chen, C., Bakker, I. & Slots, J. (1996). Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiology and Immunology* **11**, 266–273.
17. Ashley, R. A. (1999). Clinical trials of a matrix metalloproteinase inhibitor in human periodontal disease. SDD Clinical Research Team. *Annals of the New York Academy of Sciences* **878**, 335–346.
18. Avila-Campos, M. J., Sacchi, C. T., Whitney, A. M., Steigerwalt, A. G. & Mayer, L. W. (1999). Arbitrarily primed-polymerase chain reaction for identification and epidemiologic subtyping of oral isolates of *Fusobacterium nucleatum*. *Journal of Periodontology* **70**, 1202–1208.
19. Axelsson, P. & Lindhe, J. (1978). Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. *Journal of Clinical Periodontology* **5**, 133–151.
20. Axelsson, P. & Lindhe, J. (1981). Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. Results after 6 years. *Journal of Clinical Periodontology* **8**, 239–248.
21. Axelsson, P., Lindhe, J. & Nystrom, B. (1991). On the prevention of caries and periodontal disease. Results of a 15-year longitudinal study in adults. *Journal of Clinical Periodontology* **18**, 182–189.
22. Axelsson, P., Nystrom, B. & Lindhe, J. (2004). The long-term effect of a plaque control program on tooth mortality, caries and periodontal disease in adults. Results after 30 years of maintenance. *Journal of Clinical Periodontology* **31**, 749–757.
23. Bachmeier, B. E., Nerlich, A. G., Boukamp, P., Lichtinghagen, R., Tschesche, H., Fritz, H. & Fink, E. (2000). Human keratinocyte cell lines differ in the expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases-1,-8, and -13 and of TIMP-1. *Biological Chemistry* **381**, 509–516.
24. Baehni, P. C., Song, M., McCulloch, C. A. & Ellen, R. P. (1992). *Treponema denticola* induces actin rearrangement and detachment of human gingival fibroblasts. *Infection and Immunity* **60**, 3360–3368.

25. Baker, A. H., Zaltsman, A. B., George, S. J. & Newby, A. C. (1998). Divergent effects of tissue inhibitor of metalloproteinase-1, -2, or -3 overexpression on rat vascular smooth muscle cell invasion, proliferation, and death in vitro. TIMP-3 promotes apoptosis. *The Journal of Clinical Investigation* **101**, 1478–1487.
26. Balbin, M., Fueyo, A., Tester, A. M., Pendas, A. M., Pitiot, A. S., Astudillo, A., Overall, C. M., Shapiro, S. D. & Lopez-Otin, C. (2003). Loss of collagenase-2 confers increased skin tumor susceptibility to male mice. *Nature Genetics* **35**, 252–257.
27. Bansal, G. S., Newman, H. N. & Wilson, M. (1990). The survival of subgingival plaque bacteria in an amine fluoride-containing gel. *Journal of Clinical Periodontology* **17**, 414–418.
28. Battikhi, T., Lee, W., McCulloch, C. A. & Ellen, R. P. (1999). *Treponema denticola* outer membrane enhances the phagocytosis of collagen-coated beads by gingival fibroblasts. *Infection and Immunity* **67**, 1220–1226.
29. Beausejour, A., Deslauriers, N. & Grenier, D. (1997). Activation of the interleukin-1 β precursor by *Treponema denticola*: a potential role in chronic inflammatory periodontal diseases. *Infection and Immunity* **65**, 3199–3202.
30. Beem, J. E., Nesbitt, W. E. & Leung, K. P. (1998). Identification of hemolytic activity in *Prevotella intermedia*. *Oral Microbiology and Immunology* **13**, 97–105.
31. Beem, J. E., Nesbitt, W. E. & Leung, K. P. (1999). Cloning of *Prevotella intermedia* loci demonstrating multiple hemolytic domains. *Oral Microbiology and Immunology* **14**, 143–152.
32. Bimstein, E. & Matsson, L. (1999). Growth and development considerations in the diagnosis of gingivitis and periodontitis in children. *Pediatric Dentistry* **21**, 186–191.
33. Bjorklund, M. & Koivunen, E. (2005). Gelatinase-mediated migration and invasion of cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta* **1755**, 37–69.
34. Bjornsson, M. J., Havemose-Poulsen, A., Stoltze, K. & Holmstrup, P. (2004). Influence of the matrix metalloproteinase inhibitor batimastat (BB-94) on periodontal bone destruction in Sprague-Dawley rats. *Journal of Periodontal Research* **39**, 269–274.
35. Bletsa, A., Nedrebo, T., Heyeraas, K. J. & Berggreen, E. (2006). Edema in oral mucosa after LPS or cytokine exposure. *Journal of Dental Research* **85**, 442–446.
36. Boehringer, H., Taichman, N. S. & Shenker, B. J. (1984). Suppression of fibroblast proliferation by oral spirochetes. *Infection and Immunity* **45**, 155–159.
37. Bollen, C. M., Mongardini, C., Papaioannou, W., van Steenberghe, D. & Quirynen, M. (1998). The effect of a one-stage full-mouth disinfection on different intra-oral niches. Clinical and microbiological observations. *Journal of Clinical Periodontology* **25**, 56–66.

38. Bonesvoll, P. (1977). Oral pharmacology of chlorhexidine. *Journal of Clinical Periodontology* **4**, 49–65.
39. Bonesvoll, P. & Gjermo, P. (1978). A comparison between chlorhexidine and some quaternary ammonium compounds with regard to retention, salivary concentration and plaque-inhibiting effect in the human mouth after mouth rinses. *Archives of Oral Biology* **23**, 289–294.
40. Bonesvoll, P., Lökken, P., Rølla, G. & Paus, P. N. (1974). Retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Archives of Oral Biology* **19**, 209–212.
41. Boni-Schnetzler, M., Thorne, J., Parnaud, G., Marselli, L., Ehses, J. A., Kerr-Conte, J., Pattou, F., Halban, P. A., Weir, G. C. & Donath, M. Y. (2008). Increased interleukin (IL)-1 β messenger ribonucleic acid expression in β -cells of individuals with type 2 diabetes and regulation of IL-1 β in human islets by glucose and autostimulation. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **93**, 4065–4074.
42. Borden, S. M., Golub, L. M. & Kleinberg, I. (1977). The effect of age and sex on the relationship between crevicular fluid flow and gingival inflammation in humans. *Journal of Periodontal Research* **12**, 160–165.
43. Bosman, C. W. & Powell, R. N. (1977). The reversal of localized experimental gingivitis. A comparison between mechanical toothbrushing procedures and a 0.2% chlorhexidine mouthrinse. *Journal of Clinical Periodontology* **4**, 161–172.
44. Bourgeois, D., Hescot, P. & Doury, J. (1997). Periodontal conditions in 35-44-yr-old adults in France, 1993. *Journal of Periodontal Research* **32**, 570–574.
45. Boyd, R. L. & Baumrind, S. (1992). Periodontal considerations in the use of bonds or bands on molars in adolescents and adults. *The Angle Orthodontist* **62**, 117–126.
46. Brambilla, E. (2001). Fluoride - is it capable of fighting old and new dental diseases? An overview of existing fluoride compounds and their clinical applications. *Caries Research* **35 Suppl 1**, 6–9.
47. Brex, M., Macdonald, L. L., Legary, K., Cheang, M. & Forgay, M. G. (1993). Long-term effects of Meridol and chlorhexidine mouthrinses on plaque, gingivitis, staining, and bacterial vitality. *Journal of Dental Research* **72**, 1194–1197.
48. Brex, M., Theilade, J. & Attstrom, R. (1983). An ultrastructural quantitative study of the significance of microbial multiplication during early dental plaque growth. *Journal of Periodontal Research* **18**, 177–186.
49. Brex, M. C., Liechti, T., Widmer, J., Gehr, P. & Lang, N. P. (1989). Histological and clinical parameters of human gingiva following 3 weeks of chemical (chlorhexidine) or mechanical plaque control. *Journal of Clinical Periodontology* **16**, 150–155.
50. Breed, R. S. (Ed.) (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9., ed. Baltimore: Williams & Wilkins.

51. Bullock, S., Newman, H. N. & Wilson, M. (1989). The in-vitro effect of an amine fluoride gel on subgingival plaque bacteria. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **23**, 59–67.
52. Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M. W., Shipley, G. L., Vandesompele, J. & Wittwer, C. T. (2009). The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry* **55**, 611–622.
53. Caldwell, C. E. & Marquis, R. E. (1999). Oxygen metabolism by *Treponema denticola*. *Oral Microbiology and Immunology* **14**, 66–72.
54. Cannell, J. S. (1981). The use of antimicrobials in the mouth. *The Journal of International Medical Research* **9**, 277–282.
55. Chapple, I. L. C., van der Weijden, F., Doerfer, C., Herrera, D., Shapira, L., Polak, D., Madianos, P., Louropoulou, A., Machtei, E., Donos, N., Greenwell, H., van Winkelhoff, A. J., Eren Kuru, B., Arweiler, N., Teughels, W., Aimetti, M., Molina, A., Montero, E. & Graziani, F. (2015). Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology* **42 Suppl 16**, S71-6.
56. Charles, C. H., Mostler, K. M., Bartels, L. L. & Mankodi, S. M. (2004). Comparative antiplaque and antigingivitis effectiveness of a chlorhexidine and an essential oil mouthrinse: 6-month clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* **31**, 878–884.
57. Charles, C. H., Pan, P. C., Sturdivant, L. & Vincent, J. W. (2000). In vivo antimicrobial activity of an essential oil-containing mouthrinse on interproximal plaque bacteria. *The Journal of clinical Dentistry* **11**, 94–97.
58. Charles, C. J. & Charles, A. H. (1994). Periodontal screening and recording. *Journal of the California Dental Association* **22**, 43–46.
59. Christersson, L. A., Albin, B., Zambon, J. J., Wikesjo, U. M. & Genco, R. J. (1987). Tissue localization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontitis. I. Light, immunofluorescence and electron microscopic studies. *Journal of Periodontology* **58**, 529–539.
60. Chubinskaya, S., Huch, K., Mikecz, K., Cs-Szabo, G., Hasty, K. A., Kuettner, K. E. & Cole, A. A. (1996). Chondrocyte matrix metalloproteinase-8: up-regulation of neutrophil collagenase by interleukin-1 beta in human cartilage from knee and ankle joints. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* **74**, 232–240.
61. Ciancio, S. (1994). Expanded and future uses of mouthrinses. *Journal of the American Dental Association (1939)* **125 Suppl 2**, 29S–32.
62. Clarke, N. G. & Hirsch, R. S. (1995). Personal risk factors for generalized periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* **22**, 136–145.

63. Cole, A. A., Chubinskaya, S., Schumacher, B., Huch, K., Szabo, G., Yao, J., Mikecz, K., Hasty, K. A. & Kuettner, K. E. (1996). Chondrocyte matrix metalloproteinase-8. Human articular chondrocytes express neutrophil collagenase. *The Journal of Biological Chemistry* **271**, 11023–11026.
64. Cole, A. A. & Kuettner, K. E. (1995). MMP-8 (neutrophil collagenase) mRNA and aggrecanase cleavage products are present in normal and osteoarthritic human articular cartilage. *Acta Orthopaedica Scandinavica. Supplementum* **266**, 98–102.
65. Conrads, G., Mutters, R., Fischer, J., Brauner, A., Lutticken, R. & Lampert, F. (1996). PCR reaction and dot-blot hybridization to monitor the distribution of oral pathogens within plaque samples of periodontally healthy individuals. *Journal of Periodontology* **67**, 994–1003.
66. Cox, S. W., Eley, B. M., Kiili, M., Asikainen, A., Tervahartiala, T. & Sorsa, T. (2006). Collagen degradation by interleukin-1 β -stimulated gingival fibroblasts is accompanied by release and activation of multiple matrix metalloproteinases and cysteine proteinases. *Oral Diseases* **12**, 34–40.
67. Cutress, T. W., Ainamo, J. & Sardo-Infirri, J. (1987). The community periodontal index of treatment needs (CPITN) procedure for population groups and individuals. *International Dental Journal* **37**, 222–233.
68. Dahlen, G., Wikstrom, M., Renvert, S., Gmur, R. & Guggenheim, B. (1990). Biochemical and serological characterization of *Bacteroides intermedius* strains isolated from the deep periodontal pocket. *Journal of Clinical Microbiology* **28**, 2269–2274.
69. Darenfed, H., Grenier, D. & Mayrand, D. (1999). Acquisition of plasmin activity by *Fusobacterium nucleatum subsp. nucleatum* and potential contribution to tissue destruction during periodontitis. *Infection and Immunity* **67**, 6439–6444.
70. Dashash, M., Drucker, D. B., Hutchinson, I. V., Bazrafshani, M. R. & Blinkhorn, A. S. (2007). Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and gingivitis in children. *Oral Diseases* **13**, 308–313.
71. Davies, G. E., Francis, J., Martin, A. R., ROSE, F. L. & Swain, G. (1954). 1:6-Di-4'-chlorophenyldiguanidohexane (hibitane); laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy* **9**, 192–196.
72. Dawson, J. R. & Ellen, R. P. (1990). Tip-oriented adherence of *Treponema denticola* to fibronectin. *Infection and Immunity* **58**, 3924–3928.
73. Dayer, J. M. & Demczuk, S. (1984). Cytokines and other mediators in rheumatoid arthritis. *Springer seminars in Immunopathology* **7**, 387–413.

74. Del Fabbro, M., Francetti, L., Bulfamante, G., Cribiu, M., Miserocchi, G. & Weinstein, R. L. (2001). Fluid dynamics of gingival tissues in transition from physiological condition to inflammation. *Journal of Periodontology* **72**, 65–73.
75. Demke, R. (2012). Plaque inhibition: the science and application of oral rinses. *Dentistry Today* **31**, 96-101; quiz 101, 95.
76. DGZMK (2005). IV. Deutsche Mundgesundheitsstudie.
77. Dinarello, C. A. (2009). Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annual Review of Immunology* **27**, 519–550.
78. Dinarello, C. A., Ikejima, T., Warner, S. J., Orencole, S. F., Lonnemann, G., Cannon, J. G. & Libby, P. (1987). Interleukin 1 induces interleukin 1. I. Induction of circulating interleukin 1 in rabbits in vivo and in human mononuclear cells in vitro. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. 1950)* **139**, 1902–1910.
79. Ding, Y., Haapasalo, M., Kerosuo, E., Lounatmaa, K., Kotiranta, A. & Sorsa, T. (1997). Release and activation of human neutrophil matrix metallo- and serine proteinases during phagocytosis of *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*. *Journal of Clinical Periodontology* **24**, 237–248.
80. Ding, Y., Uitto, V. J., Haapasalo, M., Lounatmaa, K., Konttinen, Y. T., Salo, T., Grenier, D. & Sorsa, T. (1996). Membrane components of *Treponema denticola* trigger proteinase release from human polymorphonuclear leukocytes. *Journal of Dental Research* **75**, 1986–1993.
81. Dogan, S., Gunay, H., Leyhausen, G. & Geurtsen, W. (2003). Effects of low-concentrated chlorhexidine on growth of *Streptococcus sobrinus* and primary human gingival fibroblasts. *Clinical Oral Investigations* **7**, 212–216.
82. Dorn, B. R., Dunn, W. A., JR & Progulske-Fox, A. (1999). Invasion of human coronary artery cells by periodontal pathogens. *Infection and Immunity* **67**, 5792–5798.
83. Duncan, T. B., Duncan, W. K. & Ball, S. de (1999). Fluoride: a review--Part II: Topical fluorides. *Mississippi Dental Association Journal* **55**, 34–36.
84. Dynes, J. J., Lawrence, J. R., Korber, D. R., Swerhone, G. D. W., Leppard, G. G. & Hitchcock, A. P. (2006). Quantitative mapping of chlorhexidine in natural river biofilms. *The Science of the Total Environment* **369**, 369–383.
85. Dzink, J. L., Socransky, S. S. & Haffajee, A. D. (1988). The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology* **15**, 316–323.
86. Egeblad, M. & Werb, Z. (2002). New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nature Reviews. Cancer* **2**, 161–174.
87. Eickholz, P. (2012). *Parodontologie von A bis Z: Grundlagen für die Praxis*. Berlin: Quintessenz.

88. Eldridge, K. R., Finnie, S. F., Stephens, J. A., Mauad, A. M., Munoz, C. A. & Kettering, J. D. (1998). Efficacy of an alcohol-free chlorhexidine mouthrinse as an antimicrobial agent. *The Journal of Prosthetic Dentistry* **80**, 685–690.
89. Eley, B. M. (1999). Antibacterial agents in the control of supragingival plaque--a review. *British Dental Journal* **186**, 286–296.
90. Ellen, R. P., Song, M. & McCulloch, C. A. (1994). Degradation of endogenous plasma membrane fibronectin concomitant with *Treponema denticola* 35405 adhesion to gingival fibroblasts. *Infection and Immunity* **62**, 3033–3037.
91. Faul, F., Erdfelder, E. & Lang, A.-G. Statistical power analyses using G*Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. *Behavior Research Methods* **2009**, 1149–1160.
92. Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A.-G. & Buchner, A. G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods* **2007**, 175–191.
93. Feng, X., Zhang, L., Xu, L., Meng, H., Lu, R., Chen, Z., Shi, D. & Wang, X. (2014). Detection of eight periodontal microorganisms and distribution of *Porphyromonas gingivalis* fimA genotypes in Chinese patients with aggressive periodontitis. *Journal of Periodontology* **85**, 150–159.
94. Fenno, J. C., Hannam, P. M., Leung, W. K., Tamura, M., Uitto, V. J. & McBride, B. C. (1998a). Cytopathic effects of the major surface protein and the chymotrypsinlike protease of *Treponema denticola*. *Infection and Immunity* **66**, 1869–1877.
95. Fenno, J. C. & McBride, B. C. (1998). Virulence factors of oral treponemes. *Anaerobe* **4**, 1–17.
96. Fenno, J. C., Wong, G. W., Hannam, P. M. & McBride, B. C. (1998b). Mutagenesis of outer membrane virulence determinants of the oral spirochete *Treponema denticola*. *FEMS Microbiology Letters* **163**, 209–215.
97. Fenno, J. C., Wong, G. W., Hannam, P. M., Muller, K. H., Leung, W. K. & McBride, B. C. (1997). Conservation of msp, the gene encoding the major outer membrane protein of oral *Treponema* spp. *Journal of Bacteriology* **179**, 1082–1089.
98. Filippo, A. B. de, Ellen, R. P. & McCulloch, C. A. (1995). Induction of cytoskeletal rearrangements and loss of volume regulation in epithelial cells by *Treponema denticola*. *Archives of Oral Biology* **40**, 199–207.
99. Finegold, S. M., Strong, C. A., McTeague, M. & Marina, M. (1993). The importance of black-pigmented gram-negative anaerobes in human infections. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* **6**, 77–82.

100. Folgueras, A. R., Pendas, A. M., Sanchez, L. M. & Lopez-Otin, C. (2004). Matrix metalloproteinases in cancer: from new functions to improved inhibition strategies. *The International Journal of Developmental Biology* **48**, 411–424.
101. Gharbia, S. E., Haapasalo, M., Shah, H. N., Kotiranta, A., Lounatmaa, K., Pearce, M. A. & Devine, D. A. (1994). Characterization of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* isolates from periodontic and endodontic infections. *Journal of Periodontology* **65**, 56–61.
102. Gharbia, S. E., Shah, H. N., Lawson, P. A. & Haapasalo, M. (1990). Distribution and frequency of *Fusobacterium nucleatum* subspecies in the human oral cavity. *Oral Microbiology and Immunology* **5**, 324–327.
103. Gjermo, P. (1975). Some aspects of drug dynamics as related to oral soft tissue. *Journal of Dental Research* **54 Spec No B**, B44-56.
104. Gjermo, P. & Eriksen, H. M. (1974). Unchanged plaque inhibiting effect of chlorhexidine in human subjects after two years of continuous use. *Archives of Oral Biology* **19**, 317–319.
105. Gmur, R. & Guggenheim, B. (1983). Antigenic heterogeneity of *Bacteroides intermedius* as recognized by monoclonal antibodies. *Infection and Immunity* **42**, 459–470.
106. Goldbach-Mansky, R., Dailey, N. J., Canna, S. W., Gelabert, A., Jones, J., Rubin, B. I., Kim, H. J., Brewer, C., Zalewski, C., Wiggs, E., Hill, S., Turner, M. L., Karp, B. I., Aksentijevich, I., Pucino, F., Penzak, S. R., Haverkamp, M. H., Stein, L., Adams, B. S., Moore, T. L., Fuhlbrigge, R. C., Shaham, B., Jarvis, J. N., O'Neil, K., Vehe, R. K., Beitz, L. O., Gardner, G., Hannan, W. P., Warren, R. W., Horn, W., Cole, J. L., Paul, S. M., Hawkins, P. N., Pham, T. H., Snyder, C., Wesley, R. A., Hoffmann, S. C., Holland, S. M., Butman, J. A. & Kastner, D. L. (2006). Neonatal-onset multisystem inflammatory disease responsive to interleukin-1beta inhibition. *The New England Journal of Medicine* **355**, 581–592.
107. Golub, L. M., Lee, H. M., Ryan, M. E., Giannobile, W. V., Payne, J. & Sorsa, T. (1998). Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Advances in Dental Research* **12**, 12–26.
108. Golub, L. M., Wolff, M., Roberts, S., Lee, H. M., Leung, M. & Payonk, G. S. (1994). Treating periodontal diseases by blocking tissue-destructive enzymes. *Journal of the American Dental Association (1939)* **125**, 163-9; discussion 169-71.
109. Goodson, J. M. (2003). Gingival crevice fluid flow. *Periodontology 2000* **31**, 43–54.
110. Gopalsami, C., Yotis, W., Corrigan, K., Schade, S., Keene, J. & Simonson, L. (1993). Effect of outer membrane of *Treponema denticola* on bone resorption. *Oral Microbiology and Immunology* **8**, 121–124.

111. Gowen, M. & Mundy, G. R. (1986). Actions of recombinant interleukin 1, interleukin 2, and interferon-gamma on bone resorption in vitro. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. 1950)* **136**, 2478–2482.
112. Grenier, D. (1992a). Demonstration of a bimodal coaggregation reaction between *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*. *Oral Microbiology and Immunology* **7**, 280–284.
113. Grenier, D. (1992b). Nutritional interactions between two suspected periodontopathogens, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and Immunity* **60**, 5298–5301.
114. Grenier, D. (1996). Degradation of host protease inhibitors and activation of plasminogen by proteolytic enzymes from *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*. *Microbiology (Reading, England)* **142 (Pt 4)**, 955–961.
115. Grenier, D., Uitto, V. J. & McBride, B. C. (1990). Cellular location of a *Treponema denticola* chymotrypsinlike protease and importance of the protease in migration through the basement membrane. *Infection and Immunity* **58**, 347–351.
116. Greten, F. R., Arkan, M. C., Bollrath, J., Hsu, L. C., Goode, J., Miething, C., Goktuna, S. I., Neuenhahn, M., Fierer, J., Paxian, S., van Rooijen, N., Xu, Y., O'Cain, T., Jaffee, B. B., Busch, D. H., Duyster, J., Schmid, R. M., Eckmann, L. & Karin, M. (2007). NF-kappaB is a negative regulator of IL-1beta secretion as revealed by genetic and pharmacological inhibition of IKKbeta. *Cell* **130**, 918–931.
117. Griffiths, G. S. (2003). Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontology 2000* **31**, 32–42.
118. Gueders, M. M., Balbin, M., Rocks, N., Foidart, J.-M., Gosset, P., Louis, R., Shapiro, S., Lopez-Otin, C., Noel, A. & Cataldo, D. D. (2005). Matrix metalloproteinase-8 deficiency promotes granulocytic allergen-induced airway inflammation. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. 1950)* **175**, 2589–2597.
119. Gulati, M. S., Grewal, N. & Kaur, A. (1998). A comparative study of effects of mouth breathing and normal breathing on gingival health in children. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry* **16**, 72–83.
120. Gupta, N., Gupta, N. D., Gupta, A., Khan, S. & Bansal, N. (2015). Role of salivary matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in chronic periodontitis diagnosis. *Frontiers of Medicine* **9**, 72–76.
121. Haapasalo, M., Hannam, P., McBride, B. C. & Uitto, V. J. (1996). Hyaluronan, a possible ligand mediating *Treponema denticola* binding to periodontal tissue. *Oral Microbiology and Immunology* **11**, 156–160.

122. Haapasalo, M., Singh, U., McBride, B. C. & Uitto, V. J. (1991). Sulfhydryl-dependent attachment of *Treponema denticola* to laminin and other proteins. *Infection and Immunity* **59**, 4230–4237.
123. Hanemaaijer, R., Sorsa, T., Konttinen, Y. T., Ding, Y., Sutinen, M., Visser, H., van Hinsbergh, V. W., Helaakoski, T., Kainulainen, T., Ronka, H., Tschesche, H. & Salo, T. (1997). Matrix metalloproteinase-8 is expressed in rheumatoid synovial fibroblasts and endothelial cells. Regulation by tumor necrosis factor-alpha and doxycycline. *The Journal of Biological Chemistry* **272**, 31504–31509.
124. Hanganu, S. C. & Murariu, A. (2009). The efficiency of some antibacterial agents on bacteria from saliva. *Revista Medico-Chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti Din Iasi* **113**, 221–226.
125. Hannig, C., Gaeding, A., Basche, S., Richter, G., Helbig, R. & Hannig, M. (2013). Effect of conventional mouthrinses on initial bioadhesion to enamel and dentin in situ. *Caries Research* **47**, 150–161.
126. Hartroth, B., Seyfahrt, I. & Conrads, G. (1999). Sampling of periodontal pathogens by paper points: evaluation of basic parameters. *Oral Microbiology and Immunology* **14**, 326–330.
127. Hefti, A., Engelberger, T. & Buttner, M. (1981). Gingivitis in Basel schoolchildren. *Schweizerische Monatsschrift für Zahnheilkunde* **91**, 1087–1092.
128. Hefti, A. F. & Huber, B. (1987). The effect on early plaque formation, gingivitis and salivary bacterial counts of mouthwashes containing hexetidine/zinc, aminefluoride/tin or chlorhexidine. *Journal of Clinical Periodontology* **14**, 515–518.
129. Herrera, D. (2013). Chlorhexidine mouthwash reduces plaque and gingivitis. *Evidence-based Dentistry* **14**, 17–18.
130. Hillman, J. D., Maiden, M. F., Pfaller, S. P., Martin, L., Duncan, M. J. & Socransky, S. S. (1993). Characterization of hemolytic bacteria in subgingival plaque. *Journal of Periodontal Research* **28**, 173–179.
131. Hine, M. K. (1950). The use of the toothbrush in the treatment of periodontitis. *Journal of the American Dental Association (1939)* **41**, 158–168.
132. Holm-Pedersen, P. & Löe, H. (1967). Flow of gingival exudate as related to menstruation and pregnancy. *Journal of Periodontal Research* **2**, 13–20.
133. Holopainen, J. M., Moilanen, J. A. O., Sorsa, T., Kivela-Rajamaki, M. J., Tervahartiala, T., Vesaluoma, M. H. & Tervo, T. M. T. (2003). Activation of matrix metalloproteinase-8 by membrane type 1-MMP and their expression in human tears after photorefractive keratectomy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **44**, 2550–2556.

134. Holt, S. C. & Bramanti, T. E. (1991). Factors in virulence expression and their role in periodontal disease pathogenesis. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine an Official Publication of the American Association of Oral Biologists* **2**, 177–281.
135. Honig, J., Rordorf-Adam, C., Siegmund, C., Wiedemann, W. & Erard, F. (1989). Increased interleukin-1 beta (IL-1 beta) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *Journal of Periodontal Research* **24**, 362–367.
136. Ingman, T., Tervahartiala, T., Ding, Y., Tschesche, H., Haerian, A., Kinane, D. F., Kontinen, Y. T. & Sorsa, T. (1996). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology* **23**, 1127–1132.
137. Ishihara, K., Miura, T., Kuramitsu, H. K. & Okuda, K. (1996). Characterization of the *Treponema denticola* prtP gene encoding a prolyl-phenylalanine-specific protease (dentilisin). *Infection and Immunity* **64**, 5178–5186.
138. Ishihara, K. & Okuda, K. (1999). Molecular pathogenesis of the cell surface proteins and lipids from *Treponema denticola*. *FEMS Microbiology Letters* **181**, 199–204.
139. Jacobson, L. (1973). Mouthbreathing and gingivitis. 1. Gingival conditions in children with epipharyngeal adenoids. *Journal of Periodontal Research* **8**, 269–277.
140. Jansen, H. J., Grenier, D. & Van der Hoeven, J S (1995). Characterization of immunoglobulin G-degrading proteases of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *Oral Microbiology and Immunology* **10**, 138–145.
141. Jentsch, H., Buchmann, A., Friedrich, A. & Eick, S. (2016). Nonsurgical therapy of chronic periodontitis with adjunctive systemic azithromycin or amoxicillin/metronidazole. *Clinical Oral Investigations* **20**, 1765–1773.
142. Jentsch, H. F. R., Eckert, F.-R., Eschrich, K., Stratul, S.-I. & Kneist, S. (2014). Antibacterial action of Chlorhexidine/thymol containing varnishes in vitro and in vivo. *International Journal of Dental Hygiene* **12**, 168–173.
143. Jervoe-Storm, P.-M., Alahdab, H., Koltzsch, M., Fimmers, R. & Jepsen, S. (2007). Comparison of curet and paper point sampling of subgingival bacteria as analyzed by real-time polymerase chain reaction. *Journal of Periodontology* **78**, 909–917.
144. Johnson, J. L. & Holdeman, L. V. (1983). *Bacteroides intermedius comb. nov.* and Descriptions of *Bacteroides corporis sp. nov.* and *Bacteroides levii sp. nov.* *International Journal of Systematic Bacteriology* **33**, 15–25.
145. Jordan, R. A., Bodechtel, C., Hertrampf, K., Hoffmann, T., Kocher, T., Nitschke, I., Schiffner, U., Stark, H., Zimmer, S. & Micheelis, W. (2014). The Fifth German Oral Health Study (Funfte Deutsche Mundgesundheitsstudie, DMS V) - rationale, design, and methods. *BMC Oral Health* **14**, 161.

146. Joshi, V. M. & Vandana, K. L. (2007). The detection of eight putative periodontal pathogens in adult and rapidly progressive periodontitis patients: an institutional study. *Indian Journal of Dental Research :Official Publication of Indian Society for Dental Research* **18**, 6–10.
147. Kahari, V. M. & Saarialho-Kere, U. (1999). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumour growth and invasion. *Annals of Medicine* **31**, 34–45.
148. Keulers, R. A., Maltha, J. C., Mikx, F. H. & Wolters-Lutgerhorst, J. M. (1993a). Attachment of *T. denticola* strains ATCC 33520, ATCC 35405, B11 and Ny541 to a morphologically distinct population of rat palatal epithelial cells. *Journal of Periodontal Research* **28**, 274–280.
149. Keulers, R. A., Maltha, J. C., Mikx, F. H. & Wolters-Lutgerhorst, J. M. (1993b). Attachment of *Treponema denticola* strains to monolayers of epithelial cells of different origin. *Oral Microbiology and Immunology* **8**, 84–88.
150. Keyes, P. H. & McCabe, R. M. (1973). The potential of various compounds to suppress microorganisms in plaques produced in vitro by a streptococcus or an actinomycete. *Journal of the American Dental Association (1939)* **86**, 396–400.
151. Kiili, M., Cox, S. W., Chen, H. Y., Wahlgren, J., Maisi, P., Eley, B. M., Salo, T. & Sorsa, T. (2002). Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *Journal of Clinical Periodontology* **29**, 224–232.
152. Kinder, S. A., Holt, S. C. & Korman, K. S. (1986). Penicillin resistance in the subgingival microbiota associated with adult periodontitis. *Journal of Clinical Microbiology* **23**, 1127–1133.
153. Kivela-Rajamaki, M. J., Maisi, P., Srinivas, R., Tervahartiala, T., Teronen, O., Husa, V., Salo, T. & Sorsa, T. (2003a). Levels and molecular forms of MMP-7 (matrilysin-1) and MMP-8 (collagenase-2) in diseased human peri-implant sulcular fluid. *Journal of Periodontal Research* **38**, 583–590.
154. Kivela-Rajamaki, M. J., Teronen, O. P., Maisi, P., Husa, V., Tervahartiala, T. I., Pirila, E. M., Salo, T. A., Mellanen, L. & Sorsa, T. A. (2003b). Laminin-5 gamma2-chain and collagenase-2 (MMP-8) in human peri-implant sulcular fluid. *Clinical Oral Implants Research* **14**, 158–165.
155. Knauper, V., Will, H., Lopez-Otin, C., Smith, B., Atkinson, S. J., Stanton, H., Hembry, R. M. & Murphy, G. (1996). Cellular mechanisms for human procollagenase-3 (MMP-13) activation. Evidence that MT1-MMP (MMP-14) and gelatinase a (MMP-2) are able to generate active enzyme. *The Journal of Biological Chemistry* **271**, 17124–17131.

156. Koivuniemi, J., Savoff, K. & Tateitschak, K. H. (1980). Gingivitis and plaque occurrence in schoolchildren in urban and rural communities. *Schweizerische Monatsschrift für Zahnheilkunde* **90**, 682–694.
157. Kolenbrander, P. E. & Andersen, R. N. (1989). Inhibition of coaggregation between *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* by lactose and related sugars. *Infection and Immunity* **57**, 3204–3209.
158. Kolenbrander, P. E., Andersen, R. N., Bleher, D. S., Eglund, P. G., Foster, J. S. & Palmer, R. J., JR (2002). Communication among oral bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews MMBR* **66**, 486-505, table of contents.
159. Kolenbrander, P. E., Andersen, R. N. & Moore, L. V. (1989). Coaggregation of *Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas flueggei*, *Selenomonas infelix*, *Selenomonas noxia*, and *Selenomonas sputigena* with strains from 11 genera of oral bacteria. *Infection and Immunity* **57**, 3194–3203.
160. Kolenbrander, P. E., Palmer, R. J., JR, Rickard, A. H., Jakubovics, N. S., Chalmers, N. I. & Diaz, P. I. (2006). Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontology 2000* **42**, 47–79.
161. Kolenbrander, P. E., Parrish, K. D., Andersen, R. N. & Greenberg, E. P. (1995). Intergeneric coaggregation of oral *Treponema spp.* with *Fusobacterium spp.* and intrageneric coaggregation among *Fusobacterium spp.* *Infection and Immunity* **63**, 4584–4588.
162. Kononen, E., Eerola, E., Frandsen, E. V., Jalava, J., Matto, J., Salmenlinna, S. & Jousimies-Somer, H. (1998a). Phylogenetic characterization and proposal of a new pigmented species to the genus *Prevotella*: *Prevotella pallens* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* **48 Pt 1**, 47–51.
163. Kononen, E., Matto, J., Vaisanen-Tunkelrott, M. L., Frandsen, E. V., Helander, I., Asikainen, S., Finegold, S. M. & Jousimies-Somer, H. (1998b). Biochemical and genetic characterization of a *Prevotella intermedia/nigrescens*-like organism. *International Journal of Systematic Bacteriology* **48 Pt 1**, 39–46.
164. Kononen, E., Nyfors, S., Matto, J., Asikainen, S. & Jousimies-Somer, H. (1997). beta-lactamase production by oral pigmented *Prevotella* species isolated from young children. *Clinical Infectious Diseases an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* **25 Suppl 2**, S272-4.
165. Koo, H. (2008). Strategies to enhance the biological effects of fluoride on dental biofilms. *Advances in Dental Research* **20**, 17–21.
166. Kornman, K. S., Page, R. C. & Tonetti, M. S. (1997). The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontology 2000* **14**, 33–53.

167. Kuyyakanond, T. & Quesnel, L. B. (1992). The mechanism of action of chlorhexidine. *FEMS Microbiology Letters* **100**, 211–215.
168. Lamont, R. J. (2006). *Oral microbiology and immunology*. Washington, D.C.: ASM Press.
169. Lamster, I. B., Oshrain, R. L. & Gordon, J. M. (1986). Enzyme activity in human gingival crevicular fluid: considerations in data reporting based on analysis of individual crevicular sites. *Journal of Clinical Periodontology* **13**, 799–804.
170. Lamster, I. B., Vogel, R. I., Hartley, L. J., DeGeorge, C. A. & Gordon, J. M. (1985). Lactate dehydrogenase, beta-glucuronidase and arylsulfatase activity in gingival crevicular fluid associated with experimental gingivitis in man. *Journal of Periodontology* **56**, 139–147.
171. Lancy, P., JR, Dirienzo, J. M., Appelbaum, B., Rosan, B. & Holt, S. C. (1983). Corncob formation between *Fusobacterium nucleatum* and *Streptococcus sanguis*. *Infection and Immunity* **40**, 303–309.
172. Lander, P. E., Newcomb, G. M., Seymour, G. J. & Powell, R. N. (1986). The antimicrobial and clinical effects of a single subgingival irrigation of chlorhexidine in advanced periodontal lesions. *Journal of Clinical Periodontology* **13**, 74–80.
173. Lang, N. P., Adler, R., Joss, A. & Nyman, S. (1990). Absence of bleeding on probing. An indicator of periodontal stability. *Journal of Clinical Periodontology* **17**, 714–721.
174. Lang, N. P., Attström, R., & Loe, H. (1998). *Proceedings of the European Workshop on Mechanical Plaque Control: Status of the art and science of dental plaque control Castle of Münchenwiler, Berne, Switzerland, May 9-12, 1998*. Chicago: Quintessence Pub. Co.
175. Lang, N. P., & Lindhe, J. (2015). *Clinical periodontology and implant dentistry*. 6. ed. Oxford: Wiley-Blackwell.
176. Leppilahti, J. M., Hernandez-Rios, P. A., Gamonal, J., Tervahartiala, T., Brignardello-Petersen, R., Mäntylä, P., Sorsa, T. & Hernandez, M. (2014). Matrix metalloproteinases and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid provide site-specific diagnostic value for chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* **41**, 348–356.
177. Leung, K. P., Fukushima, H., Sagawa, H., Walker, C. B. & Clark, W. B. (1989). Surface appendages, hemagglutination, and adherence to human epithelial cells of *Bacteroides intermedius*. *Oral Microbiology and Immunology* **4**, 204–210.
178. Lie, M. A., van der Weijden, G A, Timmerman, M. F., Loos, B. G., van Steenberghe, T. J. & van der Velden, U. (2001). Occurrence of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* in relation to gingivitis and gingival health. *Journal of Clinical Periodontology* **28**, 189–193.

179. Lindhe, J., Haffajee, A. D. & Socransky, S. S. (1983). Progression of periodontal disease in adult subjects in the absence of periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology* **10**, 433–442.
180. Listgarten, M. A. (1976). Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study. *Journal of Periodontology* **47**, 1–18.
181. Listgarten, M. A. (1986). Pathogenesis of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* **13**, 418–430.
182. Listgarten, M. A. & Levin, S. (1981). Positive correlation between the proportions of subgingival spirochetes and motile bacteria and susceptibility of human subjects to periodontal deterioration. *Journal of Clinical Periodontology* **8**, 122–138.
183. Listgarten, M. A., Mayo, H. E. & Tremblay, R. (1975). Development of dental plaque on epoxy resin crowns in man. A light and electron microscopic study. *Journal of Periodontology* **46**, 10–26.
184. Listgarten, M. A., Schifter, C. C. & Laster, L. (1985). 3-year longitudinal study of the periodontal status of an adult population with gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology* **12**, 225–238.
185. Liu, P., Liu, Y., Wang, J., Guo, Y., Zhang, Y. & Xiao, S. (2014). Detection of *fusobacterium nucleatum* and fadA adhesin gene in patients with orthodontic gingivitis and non-orthodontic periodontal inflammation. *PLOS One* **9**, e85280.
186. Lobene, R. R., Weatherford, T., Ross, N. M., Lamm, R. A. & Menaker, L. (1986). A modified gingival index for use in clinical trials. *Clinical Preventive Dentistry* **8**, 3–6.
187. Löe, H. & Schiott, C. R. (1970). The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *Journal of Periodontal Research* **5**, 79–83.
188. Löe, H., Theilade E. & Jensen SB. (1965). Experimental gingivitis in man. *Journal of Periodontology*
189. Loesche, W. J. (1988). The role of spirochetes in periodontal disease. *Advances in Dental Research* **2**, 275–283.
190. Loesche, W. J., Lopatin, D. E., Stoll, J., van Poperin, N. & Hujoel, P. P. (1992). Comparison of various detection methods for periodontopathic bacteria: can culture be considered the primary reference standard? *Journal of Clinical Microbiology* **30**, 418–426.
191. Lorenz, K., Bruhn, G., Heumann, C., Netuschil, L., Brex, M. & Hoffmann, T. (2006). Effect of two new chlorhexidine mouthrinses on the development of dental plaque, gingivitis, and discolouration. A randomized, investigator-blind, placebo-controlled, 3-week experimental gingivitis study. *Journal of Clinical Periodontology* **33**, 561–567.

192. Ma, Y.-y., Zhang, T.-w., Jiang, Y.-x. & Liu, S.-t. (2015). Comparative analysis of 6 kinds of bacteria in the subgingival plaque in different types of patients with periodontal diseases. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue = Shanghai Journal of Stomatology* **24**, 574–578.
193. Maeda, N., Okamoto, M., Kondo, K., Ishikawa, H., Osada, R., Tsurumoto, A. & Fujita, H. (1998). Incidence of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* in periodontal health and disease. *Microbiology and Immunology* **42**, 583–589.
194. Mäntylä, P., Stenman, M., Kinane, D. F., Tikanoja, S., Luoto, H., Salo, T. & Sorsa, T. (2003). Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *Journal of Periodontal Research* **38**, 436–439.
195. Marchetti, E., Casalena, F., Capestro, A., Tecco, S., Mattei, A. & Marzo, G. (2015). Efficacy of two mouthwashes on 3-day supragingival plaque regrowth: a randomized crossover clinical trial. *International Journal of Dental Hygiene*.
196. Marsh, P., Martin, M. V. (2003). *Orale Mikrobiologie*. Stuttgart. New York: Thieme Verlag.
197. Matto, J., Asikainen, S., Vaisanen, M. L., Troil-Linden, B. von, Kononen, E., Saarela, M., Salminen, K., Finegold, S. M. & Jousimies-Somer, H. (1999). Beta-lactamase production in *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, and *Prevotella pallens* genotypes and in vitro susceptibilities to selected antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **43**, 2383–2388.
198. Matto, J., Saarela, M., Troil-Linden, B. von, Kononen, E., Jousimies-Somer, H., Torkko, H., Alaluusua, S. & Asikainen, S. (1996). Distribution and genetic analysis of oral *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *Oral Microbiology and Immunology* **11**, 96–102.
199. Mazza, J. E., Newman, M. G. & Sims, T. N. Clinical and antimicrobial effect of stannous fluoride on periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* **1981**.
200. McCawley, L. J. & Matrisian, L. M. (2001). Matrix metalloproteinases: they're not just for matrix anymore! *Current Opinion in Cell Biology* **13**, 534–540.
201. McDonald, J. L., JR, Schemehorn, B. R. & Stookey, G. K. (1978). Influence of fluoride upon plaque and gingivitis in the beagle dog. *Journal of Dental Research* **57**, 899–902.
202. McMillan, S. J., Kearley, J., Campbell, J. D., Zhu, X. W., Larbi, K. Y., Shipley, J. M., Senior, R. M., Nourshargh, S. & Lloyd, C. M. (2004). Matrix metalloproteinase-9 deficiency results in enhanced allergen-induced airway inflammation. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. 1950)* **172**, 2586–2594.

203. Mergenhausen, S. E., Hampp, E. G. & Scherp, H. W. (1961). Preparation and biological activities of endotoxins from oral bacteria. *The Journal of Infectious Diseases* **108**, 304–310.
204. Micheelis, W. & Schiffner, U. Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV).
205. Mikx, F. H. (1997). Environmental effects on the growth and proteolysis of *Treponema denticola* ATCC 33520. *Oral Microbiology and Immunology* **12**, 249–253.
206. Moilanen, M., Pirila, E., Grenman, R., Sorsa, T. & Salo, T. (2002). Expression and regulation of collagenase-2 (MMP-8) in head and neck squamous cell carcinomas. *The Journal of Pathology* **197**, 72–81.
207. Mombelli, A., Gusberti, F. A., van Oosten, M. A. & Lang, N. P. (1989). Gingival health and gingivitis development during puberty. A 4-year longitudinal study. *Journal of Clinical Periodontology* **16**, 451–456.
208. Moore, W. E., Moore, L. H., Ranney, R. R., Smibert, R. M., Burmeister, J. A. & Schenkein, H. A. (1991). The microflora of periodontal sites showing active destructive progression. *Journal of Clinical Periodontology* **18**, 729–739.
209. Moore, W. E. & Moore, L. V. (1994). The bacteria of periodontal diseases. *Periodontology 2000* **5**, 66–77.
210. Mor-Reinoso, C., Pascual, A., Nart, J. & Quirynen, M. (2015). Inhibition of de novo plaque growth by a new 0.03 % chlorhexidine mouth rinse formulation applying a non-brushing model: a randomized, double blind clinical trial. *Clinical Oral Investigations*.
211. Moter, A., Hoenig, C., Choi, B. K., Riep, B. & Gobel, U. B. (1998). Molecular epidemiology of oral treponemes associated with periodontal disease. *Journal of Clinical Microbiology* **36**, 1399–1403.
212. Müller, H.-P. (2016). *Periodontology: The essentials*. 2., ed. Stuttgart, New York: Thieme.
213. Murphy, G. & Knauper, V. (1997). Relating matrix metalloproteinase structure to function: why the "hemopexin" domain? *Matrix Biology Journal of the International Society for Matrix Biology* **15**, 511–518.
214. Najafi, M. H., Taheri, M., Mokhtari, M. R., Forouzanfar, A., Farazi, F., Mirzaee, M., Ebrahimi, Z. & Mehrara, R. (2012). Comparative study of 0.2% and 0.12% digluconate chlorhexidine mouth rinses on the level of dental staining and gingival indices. *Dental Research Journal* **9**, 305–308.
215. Newman, M. G. (1996). Proceedings of the 1996 World Workshop in Periodontics. Lansdowne, Virginia, July 13-17, 1996. *Annals of Periodontology / the American Academy of Periodontology* **1**, 1–947.

216. Nguyen, L., Dewhirst, F. E., Hauschka, P. V. & Stashenko, P. (1991). Interleukin-1 beta stimulates bone resorption and inhibits bone formation in vivo. *Lymphokine and Cytokine Research* **10**, 15–21.
217. Nyvad, B. & Kilian, M. (1987). Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo. *Scandinavian Journal of Dental Research* **95**, 369–380.
218. Oguntebi, B., Slee, A. M., Tanzer, J. M. & Langeland, K. (1982). Predominant microflora associated with human dental periapical abscesses. *Journal of Clinical Microbiology* **15**, 964–966.
219. Okamoto, M., Maeda, N., Kondo, K. & Leung, K. P. (1999). Hemolytic and hemagglutinating activities of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *FEMS Microbiology Letters* **178**, 299–304.
220. Okamoto, T., Akuta, T., Tamura, F., van der Vliet, A. & Akaike, T. (2004). Molecular mechanism for activation and regulation of matrix metalloproteinases during bacterial infections and respiratory inflammation. *Biological Chemistry* **385**, 997–1006.
221. Oliver, R. C., Brown, L. J. & Loe, H. (1998). Periodontal diseases in the United States population. *Journal of Periodontology* **69**, 269–278.
222. Oliver, R. C., Holm-Pedersen, P. & Loe, H. (1969). The correlation between clinical scoring exudate measurements and microscopic evaluation of inflammation in the gingiva. *Journal of Periodontal Research* **4**, 160.
223. Olsen, I. (1984). Attachment of *Treponema denticola* to cultured human epithelial cells. *Scandinavian Journal of Dental Research* **92**, 55–63.
224. Onagawa, M., Ishihara, K. & Okuda, K. (1994). Coaggregation between *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*. *The Bulletin of Tokyo Dental College* **35**, 171–181.
225. Otten, M. P., Busscher, H. J., van der Mei, H. C., Abbas, F. & van Hoogmoed, C. G. (2010). Retention of antimicrobial activity in plaque and saliva following mouthrinse use in vivo. *Caries Research* **44**, 459–464.
226. Owen, C. A., Hu, Z., Lopez-Otin, C. & Shapiro, S. D. (2004). Membrane-bound matrix metalloproteinase-8 on activated polymorphonuclear cells is a potent, tissue inhibitor of metalloproteinase-resistant collagenase and serpinase. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. 1950)* **172**, 7791–7803.
227. Page, R. C. (1986). Gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology* **13**, 345–359.
228. Page, R. C. & Schroeder, H. E. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* **34**, 235–249.

229. Palosaari, H., Wahlgren, J., Larmas, M., Ronka, H., Sorsa, T., Salo, T. & Tjaderhane, L. (2000). The expression of MMP-8 in human odontoblasts and dental pulp cells is down-regulated by TGF-beta1. *Journal of Dental Research* **79**, 77–84.
230. Pandit, S., Kim, J. E., Jung, K. H., Chang, K. W. & Jeon, J. G. (2011). Effect of sodium fluoride on the virulence factors and composition of *Streptococcus mutans* biofilms. *Archives of Oral Biology* **56**, 643–649.
231. Papapanou, P. N. (1996). Periodontal diseases: epidemiology. *Annals of Periodontology / the American Academy of Periodontology* **1**, 1–36.
232. Pietrantonio, F., Noble, P. B., Amsel, R. & Chan, E. C. (1988). Locomotory characteristics of *Treponema denticola*. *Canadian Journal of Microbiology* **34**, 748–752.
233. Potempa, J., Banbula, A. & Travis, J. (2000). Role of bacterial proteinases in matrix destruction and modulation of host responses. *Periodontology 2000* **24**, 153–192.
234. Pradeep, A. R., Kumari, M., Priyanka, N. & Naik, S. B. (2012). Efficacy of chlorhexidine, metronidazole and combination gel in the treatment of gingivitis--a randomized clinical trial. *Journal of the International Academy of Periodontology* **14**, 91–96.
235. Preshaw, P. M., Hefti, A. F., Jepsen, S., Etienne, D., Walker, C. & Bradshaw, M. H. (2004). Subantimicrobial dose doxycycline as adjunctive treatment for periodontitis. A review. *Journal of Clinical Periodontology* **31**, 697–707.
236. Prikk, K., Maisi, P., Pirila, E., Reintam, M. A., Salo, T., Sorsa, T. & Sepper, R. (2002). Airway obstruction correlates with collagenase-2 (MMP-8) expression and activation in bronchial asthma. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* **82**, 1535–1545.
237. Prikk, K., Maisi, P., Pirila, E., Sepper, R., Salo, T., Wahlgren, J. & Sorsa, T. (2001). In vivo collagenase-2 (MMP-8) expression by human bronchial epithelial cells and monocytes/macrophages in bronchiectasis. *The Journal of Pathology* **194**, 232–238.
238. Quirynen, M., Bollen, C. M., Vandekerckhove, B. N., Dekeyser, C., Papaioannou, W. & Eyssen, H. (1995). Full- vs. partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. *Journal of Dental Research* **74**, 1459–1467.
239. Ramberg, P., Furuichi, Y., Volpe, A. R., Gaffar, A. & Lindhe, J. (1996). The effects of antimicrobial mouthrinses on de novo plaque formation at sites with healthy and inflamed gingivae. *Journal of Clinical Periodontology* **23**, 7–11.
240. Ramberg, P., Sekino, S., Uzel, N. G., Socransky, S. & Lindhe, J. (2003). Bacterial colonization during de novo plaque formation. *Journal of Clinical Periodontology* **30**, 990–995.

241. Ramfjord, S. & Kiester, G. (1954). The Gingival Sulcus and the Periodontal Pocket Immediately Following Scaling of Teeth. *Journal of Periodontology* **25**, 167–176.
242. Rateitschak, K. H. (2004). *Farbatlanten der Zahnmedizin*. 3. ed. Stuttgart, New York: Georg Thieme.
243. Rathnayake, N., Akerman, S., Klinge, B., Lundegren, N., Jansson, H., Tryselius, Y., Sorsa, T. & Gustafsson, A. (2013). Salivary biomarkers of oral health: a cross-sectional study. *Journal of Clinical Periodontology* **40**, 140–147.
244. Renvert, S., Wikstrom, M., Dahlen, G., Slots, J. & Egelberg, J. (1990). Effect of root debridement on the elimination of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* from periodontal pockets. *Journal of Clinical Periodontology* **17**, 345–350.
245. Richards, D. & Rutherford, R. B. (1988). The effects of interleukin 1 on collagenolytic activity and prostaglandin-E secretion by human periodontal-ligament and gingival fibroblast. *Archives of Oral Biology* **33**, 237–243.
246. Riviere, G. R. & DeRouen, T. A. (1998). Association of oral spirochetes from periodontally healthy sites with development of gingivitis. *Journal of Periodontology* **69**, 496–501.
247. Riviere, G. R., Elliot, K. S., Adams, D. F., Simonson, L. G., Forgas, L. B., Nilus, A. M. & Lukehart, S. A. (1992). Relative proportions of pathogen-related oral spirochetes (PROS) and *Treponema denticola* in supragingival and subgingival plaque from patients with periodontitis. *Journal of Periodontology* **63**, 131–136.
248. Rølla, G., Løe, H. & Schiott, C. R. (1970). The affinity of chlorhexidine for hydroxyapatite and salivary mucins. *Journal of Periodontal Research* **5**, 90–95.
249. Rølla, G., Løe, H. & Schiott, C. R. (1971). Retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Archives of Oral Biology* **16**, 1109–1116.
250. Rølla, G. & Melsen, B. (1975). On the mechanism of the plaque inhibition by chlorhexidine. *Journal of Dental Research* **54 Spec No B**, B57-62.
251. Rosebury, T., Macdonald, J. B. & Clark, A. R. (1950). A bacteriologic survey of gingival scrapings from periodontal infections by direct examination, guinea pig inoculation, and anaerobic cultivation. *Journal of Dental Research* **29**, 718–731.
252. Rosen, G., Naor, R., Rahamim, E., Yishai, R. & Sela, M. N. (1995). Proteases of *Treponema denticola* outer sheath and extracellular vesicles. *Infection and Immunity* **63**, 3973–3979.
253. Rosen, G., Sela, M. N., Naor, R., Halabi, A., Barak, V. & Shapira, L. (1999). Activation of murine macrophages by lipoprotein and lipooligosaccharide of *Treponema denticola*. *Infection and Immunity* **67**, 1180–1186.

254. Rudin, H. J., Overdiek, H. F. & Rateitschak, K. H. (1970). Correlation between sulcus fluid rate and clinical and histological inflammation of the marginal gingiva. *Helvetica odontologica acta* **14**, 21–26.
255. Saari, H., Suomalainen, K., Lindy, O., Konttinen, Y. T. & Sorsa, T. (1990). Activation of latent human neutrophil collagenase by reactive oxygen species and serine proteases. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **171**, 979–987.
256. Saglie, F. R., Marfany, A. & Camargo, P. de (1988). Intragingival occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* in active destructive periodontal lesions. *Journal of Periodontology* **59**, 259–265.
257. Saiki, R. K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K. B., Horn, G. T., Erlich, H. A. & Arnheim, N. (1985). Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science (New York, N.Y.)* **230**, 1350–1354.
258. Salminen, A., Kopra, K. A. E., Hyvarinen, K., Paju, S., Mäntylä, P., Buhlin, K., Nieminen, M. S., Sinisalo, J. & Pussinen, P. J. (2015). Quantitative PCR analysis of salivary pathogen burden in periodontitis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **5**, 69.
259. Schacher, B., Baron, F., Rossberg, M., Wohlfeil, M., Arndt, R. & Eickholz, P. (2007). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* as indicator for aggressive periodontitis by two analysing strategies. *Journal of Clinical Periodontology* **34**, 566–573.
260. Schätzle, M., Löe, H., Lang, N. P., Bürgin, W., Anerud, A. & Boysen, H. (2004). The clinical course of chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* **31**, 1122–1127.
261. Schurch, E., JR, Bürgin, W. B., Lang, N. P., Geering, A. H., Uvira, R., Stiefel, S. & Minder, C. E. (1991). The periodontal status of the population of 12 cantons in Switzerland. *Schweizer Monatsschrift für Zahnmedizin* **101**, 1393–1398.
262. Seiki, M. (1999). Membrane-type matrix metalloproteinases. *APMIS acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica* **107**, 137–143.
263. Sela, M. N., Bolotin, A., Naor, R., Weinberg, A. & Rosen, G. (1997). Lipoproteins of *Treponema denticola*: their effect on human polymorphonuclear neutrophils. *Journal of Periodontal Research* **32**, 455–466.
264. Sela, M. N., Kornman, K. S., Ebersole, J. L. & Holt, S. C. (1987). Characterization of treponemes isolated from human and non-human primate periodontal pockets. *Oral Microbiology and Immunology* **2**, 21–29.
265. Sela, M. N., Steinberg, D., Klinger, A., Krausz, A. A. & Kohavi, D. (1999). Adherence of periodontopathic bacteria to bioabsorbable and non-absorbable barrier membranes in vitro. *Clinical Oral Implants Research* **10**, 445–452.

266. Sela, M. N., Weinberg, A., Borinsky, R., Holt, S. C. & Dishon, T. (1988). Inhibition of superoxide production in human polymorphonuclear leukocytes by oral treponemal factors. *Infection and Immunity* **56**, 589–594.
267. Serrano, J., Escribano, M., Roldan, S., Martin, C. & Herrera, D. (2015). Efficacy of adjunctive anti-plaque chemical agents in managing gingivitis: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology* **42 Suppl 16**, S106-38.
268. Shah, H. N. & Gharbia, S. E. (1992). Biochemical and chemical studies on strains designated *Prevotella intermedia* and proposal of a new pigmented species, *Prevotella nigrescens* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* **42**, 542–546.
269. Shellis, R. P. & Duckworth, R. M. (1994). Studies on the cariostatic mechanisms of fluoride. *International Dental Journal* **44**, 263–273.
270. Shenker, B. J., Listgarten, M. A. & Taichman, N. S. (1984). Suppression of human lymphocyte responses by oral spirochetes: a monocyte-dependent phenomenon. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. 1950)* **132**, 2039–2045.
271. Shibata, Y., Fujimura, S. & Nakamura, T. (1993). Purification and partial characterization of an elastolytic serine protease of *Prevotella intermedia*. *Applied and Environmental Microbiology* **59**, 2107–2111.
272. Shibutani, T., Yamashita, K., Aoki, T., Iwayama, Y., Nishikawa, T. & Hayakawa, T. (1999). Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1 and TIMP-2) stimulate osteoclastic bone resorption. *Journal of Bone and Mineral Metabolism* **17**, 245–251.
273. Silness, J. & L  e, H. (1964). Peridodental disease in pregnancy. II. correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontologica Scandinavica* **22**, 121–135.
274. Simonson, L. G., Goodman, C. H., Bial, J. J. & Morton, H. E. (1988). Quantitative relationship of *Treponema denticola* to severity of periodontal disease. *Infection and Immunity* **56**, 726–728.
275. Simonson, L. G., Goodman, C. H. & Morton, H. E. (1990). Quantitative immunoassay of *Treponema denticola* serovar C in adult periodontitis. *Journal of Clinical Microbiology* **28**, 1493–1496.
276. Slots, J., MacDonald, E. S. & Nowzari, H. (1999). Infectious aspects of periodontal regeneration. *Periodontology 2000* **19**, 164–172.
277. Sobue, T., Hakeda, Y., Kobayashi, Y., Hayakawa, H., Yamashita, K., Aoki, T., Kumegawa, M., Noguchi, T. & Hayakawa, T. (2001). Tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2 directly stimulate the bone-resorbing activity of isolated mature osteoclasts. *Journal of Bone and Mineral Research the Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* **16**, 2205–2214.

278. Socransky, S. S., Gibbons, R. J., Dale, A. C., Bortnick, L., Rosenthal, E. & Macdonald, J. B. (1963). The microbiota of the gingival crevice area of man. I. Total microscopic and viable counts and counts of specific organisms. *Archives of Oral Biology* **8**, 275–280.
279. Socransky, S. S. & Haffajee, A. D. (1992). The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *Journal of Periodontology* **63**, 322–331.
280. Socransky, S. S. & Haffajee, A. D. (2002). Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontology 2000* **28**, 12–55.
281. Socransky, S. S. & Haffajee, A. D. (2005). Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000* **38**, 135–187.
282. Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C. & Kent, R L Jr (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology* **25**, 134–144.
283. Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Goodson, J. M. & Lindhe, J. (1984). New concepts of destructive periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* **11**, 21–32.
284. Sorsa, T., Ding, Y., Salo, T., Lauhio, A., Teronen, O., Ingman, T., Ohtani, H., Andoh, N., Takeha, S. & Konttinen, Y. T. (1994). Effects of tetracyclines on neutrophil, gingival, and salivary collagenases. A functional and western-blot assessment with special reference to their cellular sources in periodontal diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences* **732**, 112–131.
285. Sorsa, T., Ding, Y. L., Ingman, T., Salo, T., Westerlund, U., Haapasalo, M., Tschesche, H. & Konttinen, Y. T. (1995). Cellular source, activation and inhibition of dental plaque collagenase. *Journal of Clinical Periodontology* **22**, 709–717.
286. Sorsa, T. & Golub, L. M. (2005). Is the excessive inhibition of matrix metalloproteinases (MMPs) by potent synthetic MMP inhibitors (MMPIs) desirable in periodontitis and other inflammatory diseases? That is: 'Leaky' MMPIs vs excessively efficient drugs. *Oral Diseases* **11**, 408–409.
287. Sorsa, T., Ingman, T., Suomalainen, K., Haapasalo, M., Konttinen, Y. T., Lindy, O., Saari, H. & Uitto, V. J. (1992). Identification of proteases from periodontopathogenic bacteria as activators of latent human neutrophil and fibroblast-type interstitial collagenases. *Infection and Immunity* **60**, 4491–4495.
288. Sorsa, T., Mäntylä, P., Ronka, H., Kallio, P., Kallis, G. B., Lundqvist, C., Kinane, D. F., Salo, T., Golub, L. M., Teronen, O. & Tikanoja, S. (1999). Scientific basis of a matrix metalloproteinase-8 specific chair-side test for monitoring periodontal and peri-implant health and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences* **878**, 130–140.

289. Sorsa, T., Suomalainen, K. & Uitto, V. J. (1990). The role of gingival crevicular fluid and salivary interstitial collagenases in human periodontal diseases. *Archives of Oral Biology* **35 Suppl**, 193S–196.
290. Sorsa, T., Tjaderhane, L. & Salo, T. (2004). Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Diseases* **10**, 311–318.
291. Sorsa, T., Uitto, V. J., Suomalainen, K., Vauhkonen, M. & Lindy, S. (1988). Comparison of interstitial collagenases from human gingiva, sulcular fluid and polymorphonuclear leukocytes. *Journal of Periodontal Research* **23**, 386–393.
292. Stadlmann, S., Pollheimer, J., Moser, P. L., Raggi, A., Amberger, A., Margreiter, R., Offner, F. A., Mikuz, G., Dirnhofer, S. & Moch, H. (2003). Cytokine-regulated expression of collagenase-2 (MMP-8) is involved in the progression of ovarian cancer. *European Journal of Cancer (Oxford, England 1990)* **39**, 2499–2505.
293. Stamm, J. W. (1986). Epidemiology of gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology* **13**, 360–366.
294. Stashenko, P., Dewhirst, F. E., Rooney, M. L., Desjardins, L. A. & Heeley, J. D. (1987). Interleukin-1 beta is a potent inhibitor of bone formation in vitro. *Journal of Bone and Mineral Research the Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* **2**, 559–565.
295. Stashenko, P., Fujiyoshi, P., Obernesser, M. S., Prostack, L., Haffajee, A. D. & Socransky, S. S. (1991). Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* **18**, 548–554.
296. Sternlicht, M. D. & Werb, Z. (2001). How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* **17**, 463–516.
297. Stingu, C. S., Jentsch, H., Eick, S., Schaumann, R., Knofler, G. & Rodloff, A. (2012). Microbial profile of patients with periodontitis compared with healthy subjects. *Quintessence International (Berlin, Germany 1985)* **43**, e23-31.
298. Stingu, C.-S., Schaumann, R., Jentsch, H., Eschrich, K., Brosteanu, O. & Rodloff, A. C. (2013). Association of periodontitis with increased colonization by *Prevotella nigrescens*. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry* **4**, 20–25.
299. Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G. & Costerton, J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Review of Microbiology* **56**, 187–209.
300. Suomi, J. D., Smith, L. W. & McClendon, B. J. (1971). Marginal gingivitis during a sixteen-week period. *Journal of Periodontology* **42**, 268–270.
301. Svatun, B. (1978). Plaque-inhibiting effect of dentifrices containing stannous fluoride. *Acta Odontologica Scandinavica*.
302. Syed, S. A., Makinen, K. K., Mäkinen, P. L., Chen, C. Y. & Muhammad, Z. (1993). Proteolytic and oxidoreductase activity of *Treponema denticola* ATCC 35405 grown in

- an aerobic and anaerobic gaseous environment. *Research in Microbiology* **144**, 317–326.
303. Syndergaard, B., Al-Sabbagh, M., Kryscio, R. J., Xi, J., Ding, X., Ebersole, J. L. & Miller, C. S. (2014). Salivary biomarkers associated with gingivitis and response to therapy. *Journal of Periodontology* **85**, e295-303.
 304. Tatakis, D. N., Schneeberger, G. & Dziak, R. (1988). Recombinant interleukin-1 stimulates prostaglandin E2 production by osteoblastic cells: synergy with parathyroid hormone. *Calcified Tissue International* **42**, 358–362.
 305. Tervahartiala, T., Pirila, E., Ceponis, A., Maisi, P., Salo, T., Tuter, G., Kallio, P., Tornwall, J., Srinivas, R., Konttinen, Y. T. & Sorsa, T. (2000). The in vivo expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases (MMP-2, -8, -13, and -14) and matrilysin (MMP-7) in adult and localized juvenile periodontitis. *Journal of Dental Research* **79**, 1969–1977.
 306. Theilade E., Wright WH., Jensen SB. & Löe, H. Experimental gingivitis in man: II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *Journal of Periodontal Research* **1966**.
 307. Thomas, D. D. (1996). Aspects of adherence of oral spirochetes. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine an Official Publication of the American Association of Oral Biologists* **7**, 4–11.
 308. Tinanoff, N., Hock, J. & Tanzer, J. M. (1978). A protocol for fluoride therapy for Connecticut residents. *Journal - Connecticut State Dental Association* **52**, 14–17.
 309. Todkar, R., Sheikh, S., Byakod, G. & Muglikar, S. (2012). Efficacy of chlorhexidine mouthrinses with and without alcohol - a clinical study. *Oral Health & Preventive Dentistry* **10**, 291–296.
 310. Turesky, S., Gilmore, N. D. & Glickman, I. (1970). Reduced Plaque Formation by the Chloromethyl Analogue of Vitamin C. *Journal of Periodontology* **41**, 41–43.
 311. Uitto, V. J., Grenier, D., Chan, E. C. & McBride, B. C. (1988). Isolation of a chymotrypsinlike enzyme from *Treponema denticola*. *Infection and Immunity* **56**, 2717–2722.
 312. Uitto, V. J., Pan, Y. M., Leung, W. K., Larjava, H., Ellen, R. P., Finlay, B. B. & McBride, B. C. (1995). Cytopathic effects of *Treponema denticola* chymotrypsin-like proteinase on migrating and stratified epithelial cells. *Infection and Immunity* **63**, 3401–3410.
 313. Uitto, V.-J., Overall, C. M. & McCulloch, C. (2003). Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontology 2000* **31**, 77–104.
 314. Umemoto, T., Li, M. & Namikawa, I. (1997). Adherence of human oral spirochetes by collagen-binding proteins. *Microbiology and Immunology* **41**, 917–923.

315. van der Mei, H. C., Engels, E., Vries, J. de & Busscher, H. J. (2008). Effects of amine fluoride on biofilm growth and salivary pellicles. *Caries Research* **42**, 19–27.
316. van Loveren, C. (2001). Antimicrobial activity of fluoride and its in vivo importance: identification of research questions. *Caries Research* **35 Suppl 1**, 65–70.
317. van Steenberghe, T. J., Bosch-Tijhof, C. J., Petit, M. D. & van der Velden, U. (1997). Intra-familial transmission and distribution of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *Journal of Periodontal Research* **32**, 345–350.
318. van Winkelhoff, A. J. & Slots, J. (1999). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in nonoral infections. *Periodontology 2000* **20**, 122–135.
319. van Winkelhoff, A. J., Winkel, E. G., Barendregt, D., Dellemijn-Kippuw, N., Stijne, A. & van der Velden, U. (1997). beta-Lactamase producing bacteria in adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* **24**, 538–543.
320. Visse, R. & Nagase, H. (2003). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation Research* **92**, 827–839.
321. Vitkov, L., Hermann, A., Krautgartner, W. D., Herrmann, M., Fuchs, K., Klappacher, M. & Hannig, M. (2005). Chlorhexidine-induced ultrastructural alterations in oral biofilm. *Microscopy Research and Technique* **68**, 85–89.
322. Voronov, E., Shouval, D. S., Krelin, Y., Cagnano, E., Benharroch, D., Iwakura, Y., Dinarello, C. A. & Apte, R. N. (2003). IL-1 is required for tumor invasiveness and angiogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **100**, 2645–2650.
323. Waerhaug, J. (1955). Microscopic Demonstration of Tissue Reaction Incident to Removal of Subgingival Calculus. *Journal of Periodontology* **26**, 26–29.
324. Wagaiyu, E. G. & Ashley, F. P. (1991). Mouthbreathing, lip seal and upper lip coverage and their relationship with gingival inflammation in 11-14 year-old schoolchildren. *Journal of Clinical Periodontology* **18**, 698–702.
325. Wahlgren, J., Maisi, P., Sorsa, T., Sutinen, M., Tervahartiala, T., Pirila, E., Teronen, O., Hietanen, J., Tjaderhane, L. & Salo, T. (2001). Expression and induction of collagenases (MMP-8 and -13) in plasma cells associated with bone-destructive lesions. *The Journal of Pathology* **194**, 217–224.
326. Weinberg, A. & Holt, S. C. (1990). Interaction of *Treponema denticola* TD-4, GM-1, and MS25 with human gingival fibroblasts. *Infection and Immunity* **58**, 1720–1729.
327. Weiss, S. J. (1989). Tissue destruction by neutrophils. *The New England Journal of Medicine* **320**, 365–376.

328. Weiss, S. J., Peppin, G., Ortiz, X., Ragsdale, C. & Test, S. T. (1985). Oxidative autoactivation of latent collagenase by human neutrophils. *Science (New York, N.Y.)* **227**, 747–749.
329. Whitford, G. M., Pashley, D. H. & Pearson, D. E. (1981). Fluoride in gingival crevicular fluid and a new method for evaporative water loss correction. *Caries Research* **15**, 399–405.
330. WHO (1978). Epidemiology, etiology, and prevention of periodontal diseases. Report of a WHO Scientific Group. *World Health Organization Technical Report Series*, 1–60.
331. Winrow, M. J. (1973). Metabolic studies with radiolabelled chlorhexidine in animals and man. *Journal of Periodontal Research. Supplement* **12**, 45–48.
332. Woessner, J. F., JR (1991). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB Journal Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* **5**, 2145–2154.
333. Yang, N.-Y., Zhang, Q., Li, J.-L., Yang, S.-H. & Shi, Q. (2014). Progression of periodontal inflammation in adolescents is associated with increased number of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, and *Fusobacterium nucleatum*. *International Journal of Paediatric Dentistry / the British Paedodontic Society [and] the International Association of Dentistry for Children* **24**, 226–233.
334. Yao, E. S., Lamont, R. J., Leu, S. P. & Weinberg, A. (1996). Interbacterial binding among strains of pathogenic and commensal oral bacterial species. *Oral Microbiology and Immunology* **11**, 35–41.
335. Yost, K. G. & VanDemark, P. J. (1978). Growth inhibition of *Streptococcus mutans* and *Leuconostoc mesenteroides* by sodium fluoride and ionic tin. *Applied and Environmental Microbiology* **35**, 920–924.

9 Anlagen

9.1 Anamnesebogen

Anamnesebogen

Name, Vorname:

Geburtsdatum:

	<u>Ja</u>	<u>Nein</u>
Liegen Allergien vor? Wenn ja, welche?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Haben Sie in den vergangenen 3 Monaten Antibiotika eingenommen?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bestehen Erkrankungen des Herzens? Wenn ja, welche?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Besitzen Sie Implantate oder alloplastische Materialien mit Kontakt zum Blutkreislauf? (z.B. Stents)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lag bei Ihnen eine septische Infektion schon einmal vor?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Besitzen Sie Zahnimplantate?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sind Sie schwanger bzw. befinden sich in der Stillzeit?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Gingivitisindex

[illegible][illegible]

Pat.-Nr.	Datum	Zeitpunkt
		T ₀

[illegible][illegible]

Danksagung

Ich möchte mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. H. Jentsch für die Überlassung des Themas und die hervorragende fachliche Betreuung recht herzlich bedanken.

Ebenso gilt mein aufrichtiger Dank den Mitarbeitern des Mikrobiologischen Labors der Klinik für Parodontologie in Bern. Besonderer Dank gilt hierbei Frau Prof. Dr. med. habil. S. Eick für ihre fachliche Beratung, konstruktiven Vorschläge und ihre Unterstützung bei der Laborarbeit.

Meinen Eltern sei an dieser Stelle für das Eröffnen der Möglichkeiten und die stets liebevolle Unterstützung auf meinem bisherigen Weg sowie den nachfolgenden Stationen gedankt. Ich möchte meinem Bruder, Alexander Weise, und Frau Viktoria Kramer für ihre Hilfe, Unterstützung und Kritik danken. Zuletzt danke ich meinen Probanden für ihre Teilnahme und Unterstützung.

Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar eine Vergütung oder geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Die aktuellen gesetzlichen Vorgaben in Bezug auf die Zulassung der klinischen Studien, die Bestimmungen des Tierschutzgesetzes, die Bestimmungen des Gentechnikgesetzes und die allgemeinen Datenschutzbestimmungen wurden eingehalten. Ich versichere, dass ich die Regelungen der Satzung der Universität Leipzig zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis kenne und eingehalten habe.

Leipzig, der 25.03.2018

.....

Peter Weise

Lebenslauf:

Name: Weise
Vorname: Peter
Adresse: Thüringer Straße 13
04179 Leipzig
E-Mail: Peter.Weise@googlemail.com
Geburtstag: 07.02.1989
Geburtsort: Hansestadt Rostock
Staatsangehörigkeit: Deutsch

Familie

Eltern: Dr. med. dent. Anne Weise
Dr. Ing. Matthias Peter Rudi Weise
Geschwister: Dipl-Kfm. Alexander Weise

Schulbildung

1997 – 2000: Grundschule am Zoo, Rostock
2000 – 2007: CJD Christophorusschule Rostock, Gymnasium
Abschluss: Abitur

Hochschulausbildung:

2007 – 2013: Studium der Zahnmedizin an der Universität Leipzig
12.08.2008 Naturwissenschaftliche Vorprüfung
29.03.2011 Zahnärztliche Vorprüfung
12.10.2013 Zahnärztliche Prüfung
01.05.2014 Assistenzarzt in der Zahnarztpraxis Wostratzky-Braun, Leipzig
01.01.2015 Assistenzarzt in der Oralchirurgischen Praxis Dr. Berger, Leipzig
01.09.2016 Angestellter Zahnarzt in der Praxis Dr. Hanke, Altenburg
01.02.2018 Angestellter Zahnarzt in der Praxis Dr. West, Leipzig